

·成果简介·

中医药抗肝纤维化研究的现状

刘平*

(上海中医药大学肝病研究所,上海 200032)

[关键词] 肝纤维化,肝硬化,中医药治疗

肝纤维化为诸多慢性肝病发展至肝硬化过程中所共有的病理组织学变化,是影响慢性肝病预后的重要环节,在尚无有效方法根治原发疾病(如我国最常见的慢性乙型肝炎)的情况下,减缓或阻止肝纤维化进程是一相当重要的治疗对策,而发扬祖国医学的优势则大有可为^[1]。本文在简述肝纤维化发生、发展机理的基础上,概述中医药肝纤维化治疗的研究现状,并就其前景作一展望。

1 肝纤维化发生发展的机理

肝纤维化是肝脏对损伤所表现出的“愈合反应”,慢性、持续性肝损伤是肝纤维化形成的前提。肝纤维化的部位与病理过程因病因而异,与纤维化形成的相关细胞种类也不尽相同。迄今有关肝纤维化发生、发展机理的研究认为,肝窦壁细胞间相互作用是影响肝纤维化转归的主要因素^[2]:(1)活化的肝星状细胞(hepatic stellate cell; HSC)是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的主要来源, HSC的激活是肝纤维化发生、发展的关键环节。(2)HSC活化受多种细胞因子的网络调节,血小板衍生生长因子(PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)及肝细胞生长因子(HGF)等促进HSC增殖,而转化生长因子(TGF) β 1在促进HSC活化及ECM生成的同时,抑制间质型胶原酶(MMP₁)、促进金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP)及明胶酶(MMP₂)的表达,加速ECM的沉积。肝坏死灶枯否细胞的活化、肝内浸润的巨噬细胞、肥大细胞及来自损伤肝细胞的诸因子的作用下,静止的HSC表达PDGF及TGF β 1受体亢进,在枯否细胞、巨噬细胞及血小板生成的TGF β 1及PDGF旁分泌地作用下转化

为肌成纤维细胞样细胞(α SM actine及细胞间粘附分子-1表达增强),继而活化的HSC又可生成TGF β 1及bFGF,自分泌地维持自我的活化。(3)肝血窦的毛细管化(Sinusiod capillarization)是肝纤维化过程中肝功能恶化及门脉高压症形成的病理基础之一。正常肝血窦壁呈筛板状结构,内皮细胞松散连接,有直径1000 Å左右的窗孔,基底膜不连续,有高度的通透性,血窦的血浆成分可由此自由地进入Disse腔,这是肝细胞快速物质代谢的重要条件;但在损伤肝或硬化肝,内皮窗孔消失;HSC释放的MMP₂破坏血窦壁正常的细胞外基质,改变其正常的三维结构,“筛板状”血窦壁变成“隔板状”毛细血管壁,以致肝细胞代谢障碍、肝功能继发性受损。该病理变化的细胞学基础是肝星状细胞、枯否细胞的活化与肝窦内皮细胞的增生,活化的枯否细胞、肝内巨噬细胞、尤其是再生肝细胞生成的血管内皮细胞生长因子(VEGF)为血窦内皮细胞增生、甚至肝硬化时血管改建的重要因素。

2 中医药抗肝纤维化的治疗

近年来,抗肝纤维化治疗的研究已有较大的进展,如多聚不饱和卵磷脂和前列腺素已在临床评价中^[3]; γ 干扰素试用于慢性肝病的治疗可抑制纤维化的进程。 α 干扰素治疗慢性丙型肝炎3年随访表明,显效、有效及无效病例与其血清Ⅲ型前胶原端肽(type-Ⅲ-procollagen-N-peptide, P-Ⅲ-P)、7S胶原含量下降成正比;显效病例的肝纤维化改善率达70%,有效及无效病例基本无变化,对照病例不但未见改善,且有40%的病例恶化。显示有效的病因治疗可以在一定程度上抑制肝纤维化的进展,促使肝组织

* 1998年国家杰出青年科学基金获得者
国家自然科学基金资助项目,批准号39825128.
本文于1999年2月23日收到。

纤维化的逆转。

目前认为,肝脏慢性损伤过程中 ECM 累积所形成的肝纤维化是可逆的,而肝硬化则是难以逆转的^[2]。但值得注意的是,血色病、空-结肠吻合术引起的肝硬化以及家族性肝内胆汁淤积、继发性胆汁性肝硬化在去除病因或手术纠正后可使肝硬化逆转;酒精性肝硬化在长达 10 年之久的戒酒后,肝脏可恢复到接近正常^[4]。连续服用抗癌剂 UFT 4 年而出现腹水、食道静脉曲张的肝纤维化患者在终止给药后腹水迅速消失,血清 P-Ⅲ-P、7S 胶原与透明质酸(hyaluronic acid, HA)含量显著下降,ICG 排泄试验及食道静脉曲张均显著改善。提示某些肝硬化也存在逆转的可能性。

近十多年来,我国传统中医药抗肝纤维化治疗研究受到广泛重视。王宝恩等应用中药复方 861 冲剂(由黄芪、丹参、鸡血藤等十味中药组成)治疗慢性乙型肝炎肝纤维化,服药 6 个月的 12 例患者治疗前后 2 次肝活检的结果表明,复方能明显减轻肝纤维化,与其肝组织炎症改善同步^[5];体内外实验均表明该方能抑制胶原基因的转录^[6]。

2.1 桃仁提取物合虫草菌丝能提高肝组织间质型胶原酶活性,促进肝纤维化的逆转

80 年代初,我们立足于中医对肝纤维化相关病证“症积”的认识,“邪在肝,则两胁中痛,行善掣,时脚肿,恶血在内”(《灵枢·五邪》)。“积之所成,正气不足而后邪气居之”(《医宗必读》)。针对“血瘀”与“正虚”这两个关键因素,应用虫草菌丝合桃仁提取物抗血吸虫病肝纤维化。通过随机双盲对照,治疗前后的腹腔镜下肝大体、活检肝组织学观察,胶原代谢[肝组织胶原酶活性、血清 MAO 活性、P-Ⅲ-P、 α_2 -巨球蛋白含量,尿羟脯氨酸(Hydroxyprolin, Hyp)排泄量等]、常规肝功能等指标证实桃仁提取物合虫草菌丝可有效地促进肝纤维化逆转,改善门脉高压,调整异常的免疫状态。家兔血吸虫病肝纤维化的实验治疗结果表明桃仁提取物合虫草菌丝的抗肝纤维化效果优于其中任何一单味药物,其主要作用机理在于提高肝组织胶原酶活性,促进纤维化肝脏肝内胶原的降解^[7,8]。

进而用该方法治疗肝炎后肝硬化也得到较好的效果。能显著提高患者血清白蛋白含量,减轻门脉高压(增宽门静脉管径及肿大的脾脏均显著缩小);降低异常增高的血清 MAO 活性、P-Ⅲ-P 及血浆 Hyp 含量;改善异常的免疫状态(提高细胞免疫,降低增高的血清 IgG 与 IgA 含量)及临床症状。治疗前后

腹腔镜下活检肝组织的观察结果表明,治疗后肝脏表面纤维沉积减少,色泽由晦暗转为红润,质地变软,镰状韧带水肿消失,网膜血管曲张程度减轻;肝组织纤维间隔内 I、Ⅲ型胶原,层粘连蛋白(Laminine, LM)及纤维连接蛋白(Fibronectine, FN)较治疗前明显减少,HSC 由活化状态转为静止态,肝脏血窦的毛细血管化也有所改善^[9-11]。此后,上海医科大学耳鼻喉科医院将桃仁提取物用于巩膜下小梁切除术后,发现该药具有抑制炎症细胞及纤维母细胞增生的作用^[12];北京友谊医院也报道虫草菌丝可有效防治血清免疫损伤性大鼠肝纤维化^[13]。

2.2 扶正化瘀中药复方逆转慢性乙型肝炎肝纤维化,对肝炎后肝硬化有综合疗效

80 年代末,进一步根据慢性肝炎气阴(肝、脾、肾)两虚、血瘀阻络、湿热疫毒内留的中医基本病机,基于以往的研究,采用活血化瘀、益精补虚治法,以丹参、桃仁、虫草菌丝、松黄等组成扶正化瘀复方(即复方 319 胶囊,下称 319 方)。临床观察结果显示,该方能显著地改善慢性乙型肝炎患者的临床症状,降低血清 ALT 活性及总胆红素含量,提高血清白蛋白含量及白/球蛋白比值,患者治疗前的血清 MAO 活性、TIMP₁、P-Ⅲ-P、Ⅳ型胶原、HA 及 LM 含量等纤维化血清学指标均显著增高,经药物治疗后均显著下降。

腹腔镜下见到治疗后肝表面纤维束减少,炎性粘连消退;活检肝组织的肝细胞变性、坏死减轻;12 例炎症分级治疗后有 5 例显著减轻,5 例无明显改变,2 例略有加重;纤维化分期有 7 例治疗后减轻(较治疗前降低 3 期的 1 例,2 期 4 例,1 期 2 例),4 例无变化,1 例加重;治疗后肝组织纤维化的逆转率(治疗后较治疗前降低 1 期以上)为 58.3%。治疗后肝窦周围 I 型胶原和 LM 减少,Ⅳ型胶原增多(肝窦组织结构向正常方向回复),大部分样本的 I、Ⅲ、Ⅳ型胶原在汇管区和纤维间隔的表达减少或消失。表明该方对慢性乙型肝炎、尤其在抗肝纤维化方面有好的疗效^[14]。

对失代偿期肝硬化 319 方也有良好的综合疗效:(1)显著提高患者血清白蛋白、降低 γ -球蛋白含量。(2)有效地改善患者血浆支链氨基酸/芳香族氨基酸比值的异常。(3)显著地降低患者增高的血清 LM 和 HA 含量。(4)提高 CD₃⁺、CD₄⁺ 数目与 CD₄⁺/CD₈⁺ 比值,NK 细胞活性及补体 C₃ 含量,降低血清 IgG 及 IgM 含量。同时能调节内分泌激素的异常变化^[15]。

3 中医药抗肝纤维化的作用机理

肝纤维化的形成与发展是极其复杂的过程,而多途径、多层次、多靶点的综合药理学作用也正显示出具有多成分特点的中药复方抗肝纤维化的特色优势。

3.1 抑制纤维增生刺激因子、HSC 增殖及胶原 mRNA 的表达

药效学实验结果表明,319 方既能有效地阻抑 CCl₄ 肝纤维化的形成,又可显著促进 CCl₄ 及二甲基亚硝胺(dimethylintrosamine, DMN)大鼠肝硬化的逆转^[16,17]。脂质过氧化物 MDA 为纤维增生刺激因子,可以显著促进 HSC 增殖、I 型胶原 mRNA 表达以及胶原蛋白的生成量;CCl₄ 慢性肝损伤大鼠肝组织 MDA 含量显著升高,且与肝组织 Hyp 含量呈正比,而 319 方可显著降低肝组织 MDA 的生成量。慢性肝损伤模型动物体内给药后分离细胞,动物经口灌胃给药后分离药物血清添加体外培养细胞等体外实验表明,319 方可显著抑制 HSC 活化、增殖,抑制 PDGF-BB 的促 HSC 增殖作用,降低 HSC 的 TGFβ₁ mRNA 及其蛋白的表达,抑制细胞的胶原 mRNA 的表达及其蛋白的分泌。进一步拆方研究表明,方中化瘀药抑制 HSC 活化与增殖的作用最强,扶正药抑制 I 型胶原 mRNA 表达及其蛋白生成的效果最佳,虫草菌丝降低 TGFβ₁ mRNA 及其蛋白表达的作用最显著。牛血清白蛋白免疫损伤性大鼠肝纤维化的治疗实验亦表明,抑制该模型大鼠肝组织内 TGFβ₁ 及其 I 型受体(TGFβR₁)的表达,是虫草菌丝及其有效成分虫草多糖抗肝纤维化的主要作用机理。药物尚能显著抑制 NIH/3T3 成纤维细胞的增殖、降低细胞内外的胶原生成率以及 I、III、IV 型胶原及 I 型胶原 mRNA 的表达。复方还通过调节肝组织间质型胶原酶活性,促进肝纤维化的逆转^[10-20]。

3.2 抗肝损伤、保护肝细胞,促进慢性损伤肝细胞功能向正常转化

肝细胞损伤、坏死及再生与肝纤维化的病理变化紧密联系在一起,肝损伤是肝纤维化的启动因素,肝坏死灶血窦壁细胞的活化不仅是肝纤维化的重要因素,也是肝细胞再生时的必然现象,慢性肝损伤时肝细胞直接参与了纤维化的进程。319 方既可抗脂质过氧化,阻止脂质过氧化及其代谢产物对肝细胞膜结构和功能的破坏,又能提高 Ca⁺⁺-ATPase 活性,维持胞浆 Ca⁺⁺ 的稳态平衡,保护肝细胞。对肝细胞增殖的影响因细胞的病理生理状态而异,药物血

清能促进原代培养正常大鼠肝细胞及急性损伤肝细胞的 DNA 合成;而对 DNA 合成率显著降低的 CCl₄ 慢性肝损伤与 DMN 肝硬化大鼠肝细胞却呈抑制作用;既提示慢性肝损伤肝细胞的生物学特性已发生改变,也说明复方对肝细胞的调控作用与肝细胞的病理生理状态有关。

正常大鼠肝细胞的细胞内、外的胶原蛋白量各占其总蛋白的 0.3%;体外急性损伤肝细胞增加 40%,慢性肝损伤的肝细胞细胞内增加 1.5 倍,细胞外增加 3.5 倍;而白蛋白生成量却下降 14%,即慢性损伤肝细胞生成白蛋白功能降低,而生成胶原等 ECM 的作用却异常增强,319 方可促使慢性损伤肝细胞功能异常的转化。自 CCl₄ 慢性肝损伤、DMN 肝硬化大鼠肝脏分离的肝细胞在体外培养条件下,Alb 的生成量均显著低下,复方药物血清可促进其恢复到正常水平;显著抑制细胞内、外胶原生成率的异常增加;体内治疗实验也同样表明复方的这一作用特点。DMN 肝硬化大鼠肝组织 Alb mRNA 表达(Northern blot)显著降低,给予复方治疗后的大鼠肝组织 Alb mRNA 表达则显著提高。

可见,中药复方抗肝纤维化具有多方位的药理作用,与肝纤维化发生、发展的复杂机理相对应,这正是中药复方抗肝纤维化、调控细胞功能及有关功能性基因的优势所在。

4 中医药抗肝纤维化治疗的前景展望

肝纤维化的有效防治首先是针对原发病的治疗,在我国需解决乙肝与丙肝病毒的持续感染问题。当前,随着肝纤维化发病机理研究的深入,针对某些重要病理环节,在治疗学上也相应提出了种种设想。如:抑制 HSC 活化的途径有抗氧化,阻断 MAPK 磷酸化(MAPK 的磷酸化机制介导了 HSC 的活化),对抗其活化因子 PDGF,抑制纤维化刺激因子 TGFβ₁ 的生成等;针对基质合成某些关键酶的拮抗剂;或着眼于胶原降解,企图提高胶原酶活性(于 HSC 内插入 MMP₁ 基因)。但这些设想多停留在实验阶段,且面临着一些难以解决的问题,如其治疗措施的脏器组织特异性,阻断某些重要环节所带来的难以预测的副作用等^[21]。中药的综合作用已显示出其明显优势和良好的前景。但是,尽管中医药能有效逆转已形成的肝纤维化,但目前研究大都采用传统的中药复方,由于天然中药的成分复杂,一味中药即含有数十种以上的化学成分,而复方的成分就更加复杂,难以阐明其确切的作用机理,因而基础研究相对滞后

也就成为阻碍中医药抗肝纤维化应用的难点之一。

肝窦毛细血管瘤是肝硬化、肝纤维化难以逆转的组织学基础,肝窦毛细血管瘤能否逆转也就成了肝硬化、肝纤维化能否逆转的重大理论问题,应该是今后治疗学研究的重点。立足于中医药抗肝纤维化的整体优势,把握肝纤维化复杂的病理变化,围绕肝纤维化的主要病理环节,吸收现代生物学针对某些重要病理环节,采取相应的阻断或促进某单一成分表达的方法进行治疗研究的思维方法,由博返约,发掘中医药调控功能性基因潜在特长,研究中医药逆转肝纤维化的现代科学理论基础。可能发现新的逆转肝纤维化的有效化学成分或已知成分的新效用,揭示中医药调控功能性基因(肝纤维化相关细胞因子及细胞外基质)的优势及其影响细胞内信号转导的作用机理,为中医药逆转肝纤维化以及早期肝硬化奠定较为坚实的理论基础,可能成为中医药攻克重大疾病的突破点。促进我国抗肝纤维化研究走在世界的前列。

参 考 文 献

- [1] 王宝恩. 肝纤维化时细胞外基质的合成与降解. 中华肝脏病杂志, 1997, 5(2): 65.
- [2] Friedman S L. Molecular mechanisms of hepatic fibrosis and principles of therapy. J. Gastroenterol, 1997, 32: 424—430.
- [3] Trotter J F, Brenner D A. Current and prospective therapies for hepatic fibrosis. Compr Ther, 1995, 21: 303—307.
- [4] Emond J C, Whittington P F. Selectiv surgical managemant of progressive famial intrahepatic cholestasis (Byler's disease). J Pediatr Surg, 1995, 30(12): 1653—1641.
- [5] 王宝恩, 赵洪涛, 王泰玲等. 复方 861 对肝炎肝纤维化疗效的病理组织学分析. 中华肝脏病杂志, 1997, 5(2): 77—78.
- [6] 贾继东, 王宝恩. 中药复方 861 合剂对实验性肝纤维化大鼠肝脏胶原 mRNA 的影响. 中华肝脏病杂志, 1996, 4(4): 214—216.
- [7] 刘平, 张礼邦, 刘成等. 桃仁提取物合人工虫草菌丝抗肝纤维化的研究-II. 对血吸虫病肝纤维化胶原代谢的影响. 上海中医药大学学报, 1988, 2(1): 22—29.
- [8] 张礼邦, 刘成, 徐列明等. 桃仁提取物合人工虫草菌丝抗肝纤维化的研究-III. 12 例血吸虫肝纤维化形态学观察. 上海中医药大学学报, 1988, 2(2): 22—23.
- [9] 刘成, 刘平, 徐列明等. 桃仁提取物合虫草菌丝治疗肝炎后肝硬化的观察. 中医杂志, 1991, 32(7): 404—407.
- [10] 徐列明, 刘平, 刘成等. 桃仁提取物合虫草菌丝治疗肝炎后肝硬化的病理和免疫组化研究. 中医杂志, 1994, 35: 737—739.
- [11] 徐列明, 刘平, 刘成等. 桃仁提取物合虫草菌丝对肝炎后肝硬化患者肝大体、超微结构和贮脂细胞的影响. 肝脏病杂志, 1993, 1: 9—11.
- [12] 汪素萍, 方军, 稽训传等. 桃仁提取液抑制巩膜下小梁切除术后滤床纤维母细胞增殖的实验研究. 上海医科大学学报, 1993, 20(1): 35—38.
- [13] 朱家璇, 王宝恩, 王泰玲. 冬虫夏草对实验性免疫损伤性肝纤维化的预防和治疗作用的研究. 中华消化杂志, 1994, 14(6): 333—335.
- [14] Liu P, Liu C, Xu L M et al. Effects of Fuzheng Huayu 319 recipe on liver fibrosis in chronic hepatitis B. W. J of Gastroenterology, 1998, 4(4): 348—353.
- [15] 刘平, 刘成, 胡义杨等. 扶正化瘀 319 方治疗肝炎后肝硬化的临床观察. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(8): 459—462.
- [16] 刘平, 胡义杨, 刘成海等. 扶正化瘀方抗二甲亚硝胺大鼠肝纤维化作用及其对贮脂细胞的影响. 中国中医药科技, 1997, 4(2): 99—101.
- [17] 胡义杨, 刘成, 刘平等. 扶正化瘀方抗 CCl₄ 大鼠肝纤维化作用与抗脂质过氧化. 新消化病学杂志, 1997, 5(8): 5—6.
- [18] Liu P, Liu C H, Liu C et al. Serun Pharmacological Study about Effects of Fuzheng Huayu Rcipe on Hepatic Stellate Cell Proliferation and Collagen Synthesis in Rats. CJIM, 1998, 4(3): 118—122.
- [19] 刘平, 方步武, 刘成等. 转化生长因子 β₁ 及虫草多糖对大鼠肝纤维化形成的影响. 中华肝脏病杂志, 1998, 6(4): 232—234.
- [20] 胡义杨, 刘平, 刘成等. CCl₄ 急性肝损伤肝 SOD、MDA 的动态变化及扶正化瘀方对其影响. 中西医结合肝病杂志, 1997, 7(2): 87—89.
- [21] 王吉耀. 关于肝纤维化研究的一些现状及展望. 中华消化杂志, 1998, 18(6): 323—324.

THE OVERVIEW AND PROSPECT ON ANTIFIBROTIC RESEARCH WITH TRADITIONAL CHINESE MEDICINE

Liu Ping

(Institute of Liver Diseases, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032)

Key words liver fibrosis, therapy traditional Chinese medicine, liver cirrhosis