

清营活血汤对原发性胆汁性肝硬化肝胆湿热型的疗效以及对外周血 Th17/Treg 平衡的影响

甘霞*, 赵新芳, 林红, 周云

(石河子大学医学院 第一附属医院, 新疆 石河子 832000)

[摘要] **目的:**探讨清营活血汤治疗原发性胆汁性肝硬化(PBC)肝胆湿热证的临床效果以及对血清 Th17/Treg 水平的影响。**方法:**选择 PBC 肝胆湿热证病例共 98 例,参照数字表法随机分为对照组和治疗组各 49 例;对照组口服复方甘草酸苷片,2 片/次,3 次/d,连服 2 周后,口服熊去氧胆酸胶囊,13~15 mg·kg⁻¹·d⁻¹,3 次/d,餐后口服;治疗组在对照组用药基础上给予清营活血汤治疗,1 剂/d,常规水煎煮 2 次,分早晚内服;所有患者均给予 24 周治疗。比较两组中医临床症状积分;分析两组患者治疗 24 周后的临床疗效;比较两组患者外周血中辅助性 T 细胞 17(Th17)细胞和调节性 T 细胞(Treg)水平;检测两组血清白细胞介素(IL)-17,IL-6 和转化生长因子-β(TGF-β)水平。**结果:**治疗组治疗后中医临床症状积分均明显低于对照组($P < 0.01$);治疗组治疗后总反应率为 93.88%,对照组为 77.55%,治疗组明显高于对照组($P < 0.05$);治疗组治疗后患者外周血中 Th17 细胞明显低于对照组,而 Treg 细胞明显高于对照组($P < 0.01$);治疗后治疗组患者血清 IL-17 和 IL-6 水平明显低于对照组,而 TGF-β 显著高于对照组,比较差异均有统计学意义($P < 0.01$)。**结论:**在西医治疗基础上,清营活血汤治疗 PBC 肝胆湿热证可显著改善患者临床症状,提高临床疗效,调节外周血 Th17/Treg 平衡及其细胞因子水平可能是其发挥疗效的机制之一。

[关键词] 清营活血汤;原发性胆汁性肝硬化;肝胆湿热证;辅助性 T 细胞 17;调节性 T 细胞

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)11-0161-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016110161

Efficacy of Qingying Huoxue Decoction in Treating Primary Biliary Cirrhosis with Liver-Gallbladder Dampness-Heat Syndrome and Effect on Th17/Treg Balance in Peripheral Blood

GAN Xia*, ZHAO Xin-fang, LIN Hong, ZHOU Yun

(First Affiliated Hospital Medical College of Shihezi University, Shihezi 832000, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the clinical efficacy of Qingying Huoxue decoction in treating primary biliary cirrhosis (PBC) with liver-gallbladder dampness-heat syndrome, and investigate its effect on Th17/Treg levels in serum. **Method:** Ninety-eight PBC patients with liver-gallbladder dampness-heat syndrome were randomly divided into control group (49 cases) and treatment group (49 cases) by digital table method. The patients of control group received compound glycyrrhizin tablets by oral administration for two weeks (2 tablets/time, *tid*) and then ursodeoxycholic acid capsules were taken by oral administration after meals, 13-15 mg·kg⁻¹·d⁻¹, *tid*. The patients of treatment group received Qingying Huoxue decoction based on the treatment of control group (1 dose/d, *bid*). The treatment course was 24 weeks for both groups. The traditional Chinese medicine (TCM) clinical symptom scores were compared between two groups; the clinical efficacy of two groups after 24 weeks of treatment were analyzed. Helper T lymphocytes (Th17) and regulatory T cells (Treg) in peripheral blood were compared between two groups. The levels of interleukin (IL) -17, IL-6 and transforming growth factor-β (TGF-β) in the serum were detected in two groups. **Result:** The TCM clinical symptom scores in treatment group were significantly lower than those in control group after treatment ($P < 0.01$). The total response rate was 93.88% in treatment

[收稿日期] 20150908(214)

[基金项目] 新疆生产建设兵团科技攻关计划课题(2011BA053)

[通讯作者] *甘霞,硕士,主治医师,从事中西医结合内科临床工作, Tel:13899509916, E-mail: ganxiawenzhang@163.com

group, significantly higher than 77.55% in the control group ($P < 0.05$). Th17 level in peripheral blood of treatment group was significantly lower than that of control group after treatment, while Treg level was significantly higher than that of control group after treatment ($P < 0.01$). The levels of IL-17 and IL-6 in serum of treatment group were significantly lower than those of control group, while TGF- β level was significantly higher than that of control group after treatment, with statistically significant differences ($P < 0.01$). **Conclusion:** Based on the western medicine, Qingying Huoxue decoction could significantly improve clinical symptoms and clinical efficacy in the treatment of PBC with liver-gallbladder dampness-heat syndrome, and its mechanism may be related to regulating Th17/Treg balance in peripheral blood and its cytokine levels.

[Key words] Qingying Huoxue decoction; primary biliary cirrhosis; liver-gallbladder dampness-heat syndrome; helper T lymphocytes; regulatory T cells

原发性胆汁性肝硬化(PBC)作为慢性胆汁淤积性肝病的一种,其病理特征以肝内细小胆管进行性破坏性炎性损害为主,伴随胆管炎性反应持续发展以及纤维组织的增生,若不及时治疗,可发展为肝硬化和肝衰竭,对患者的生存构成严重威胁^[1]。熊去氧胆酸(UDCA)是目前临床治疗 PBC 的常用药物,可改善生化指标,延缓患者肝脏组织学进展^[2];然而,单纯采用 UDCA 治疗对部分 PBC 患者疗效欠佳,对于已有黄疸的患者,效果不甚明显^[3]。

近年,采用中医药治疗 PBC 取得较大进展,在 UDCA 治疗基础上联合中药治疗可明显改善 PBC 患者肝功能,提高临床疗效^[4];本研究选择我院近年收治的 PBC 肝胆湿热证患者作为研究对象,依据其病证特点,在 UDCA 治疗基础上给予清营活血汤内服;清营活血汤是依据《温经条辨》古方清营汤化裁而定,功用清热利湿、活血解毒;本研究重点探讨其对 PBC 患者外周血辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)平衡的影响,以其为临床用药提供更多研究资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 11 月—2014 年 10 月收治的 PBC 肝胆湿热证患者共 98 例,参照数字表法随机分为对照组和治疗组各 49 例;对照组男性 6 例,女性 43 例;年龄 33~64 岁,平均(49.25±5.21)岁;病程 7 个月~4 年,平均(2.56±0.7)年。治疗组男性 8 例,女性 41 例;年龄 36~63 岁,平均(48.97±4.96)岁;病程 10 个月~4.5 年,平均(2.62±0.30)年。两组患者之间在性别、年龄和病程资料比较,差异均无统计学意义,具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 参照《原发性胆汁性肝硬化的管理·美国肝病研究学会诊治指南》^[5]标准制定。①血清生化指标改变,谷氨酰转肽酶(CGT),碱

性磷酸酶(ALP)等升高;B 超检查,胆道系统正常;抗线粒体抗体(AMA)阳性(滴度 $\geq 1:40$)或 AMA-M₂亚型阳性。②AMA 或 AMA-M₂阴性者,则检测抗平滑肌抗体及免疫球蛋白、抗核抗体(ANA),且肝活检符合 PBC 病理变化。

1.2.2 肝胆湿热证诊断标准 参照《中医内科常见病诊疗指南·西医疾病部分》^[6]标准。证候:身目俱黄,色泽鲜明,小便黄赤,大便色浅,纳呆呕恶,厌食油腻,乏力;苔黄腻或厚腻,脉弦数或濡数。

1.3 纳入标准 ①符合上述 PBC 和中医肝胆湿热证诊断标准;②年龄 30~70 岁;③B 超检查提示无肝门静脉高压、腹腔积液等肝硬化失代偿表现;④自愿接受本案药物治疗,加入前签署同意书者。

1.4 排除标准 ①伴有心、脑、肾以及内分泌等系统严重疾病以及精神病患者;②妊娠或哺乳期妇女;③PBC 为第 I 期和 IV 期者;④肝脏储备功能进行量化评估(Child-Pugh)等级评分^[7]>13 分;⑤合并病毒性、酒精性、药物性肝炎或其他自身免疫性肝病导致的肝功能损害者。

1.5 治疗方法 对照组给予复方甘草酸苷片(西安利君制药有限公司,国药准字 H20093006)口服,2 片/次,3 次/d,连服 2 周;同时服用熊去氧胆酸胶囊(德国福克大药厂 Losan pharma GmbH,进口药品注册证号 H20100502),13~15 mg·kg⁻¹·d⁻¹,3 次/d,餐后服用,连服 24 周。治疗组在对照组用药基础上给予清营活血汤加减内服,方药组成:茵陈 18 g,金钱草 30 g,虎杖 15 g,当归 12 g,牛膝 9 g,水牛角 30 g,地黄 15 g,玄参 9 g,麦冬 9 g,金银花 9 g,连翘 6 g,黄连 5 g,丹参 10 g,淡竹叶 9 g;1 剂/d,常规水煎煮,分早晚 2 次服用。两组患者均给予 24 周治疗。

1.6 观察指标 ①两组中医临床症状改善评价,参照《中药新药临床研究指导原则》标准。评价指标

包括身目俱黄,口干而苦,恶心呕吐,厌食,乏力;按症状等级记分,无(0分)、轻(2分)、中(4分)和重(6分),得分越高,表明疾病状况越差。②两组患者肝功能指标检测,于治疗前、治疗后4周和24周后采取全自动生化分析仪测定。③两组患者外周血 Th17 和 Treg 检测,采用流式细胞仪于治疗前后进行测定。④两组血清白细胞介素(IL)-17,IL-6 和转化生长因子(TGF)- β 水平测定,均采用酶联免疫吸附法于治疗前后进行检测,IL-17 试剂盒(北京华泰昕生物技术有限公司,批号 K4740-100),IL-6 试剂盒(上海麦约尔生物技术有限公司,批号 ELH-IL6-1)和 TGF- β 试剂盒(上海酶研生物科技有限公司,批号 M-01731)。

1.7 疗效评定标准 参照《自身免疫性肝病基础与临床》^[8]。完全反应:症状明显改善,治疗后第4周肝功能生化指标至少改善1/2,在第24周内AST,

GGT 和 ALP 水平连续降至正常上限范围值的2倍之内周;部分反应:主要临床表现有所改善,但仍未达到满意缓解者,其临床症状、肝功能生化指标呈部分改善;无反应:临床症状、肝功能生化指标无改善甚或加重;复发:完全反应后,临床症状重现,且伴血清AST,GGT,ALP水平升高。

1.8 统计学方法 数据采用 SPSS 19.0 统计学分析软件进行,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者中医临床症状评分比较 两组患者治疗后中医临床症状积分比治疗前均明显减少($P < 0.01$);治疗后治疗组中医临床症状积分均低于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表1。

表 1 两组患者中医临床症状评分比较 ($\bar{x} \pm s, n = 49$)

组别	时间	身目俱黄	口干而苦	恶心呕吐	厌食	乏力
对照	治疗前	4.58 ± 0.51	4.65 ± 0.54	4.47 ± 0.56	4.52 ± 0.49	4.63 ± 0.55
	治疗后	2.33 ± 0.26 ¹⁾	2.41 ± 0.29 ¹⁾	2.25 ± 0.27 ¹⁾	2.12 ± 0.24 ¹⁾	2.22 ± 0.25 ¹⁾
治疗	治疗前	4.63 ± 0.49	4.58 ± 0.52	4.52 ± 0.58	4.56 ± 0.54	4.59 ± 0.57
	治疗后	0.94 ± 0.10 ^{1,2)}	0.88 ± 0.11 ^{1,2)}	0.72 ± 0.09 ^{1,2)}	0.70 ± 0.08 ^{1,2)}	0.62 ± 0.09 ^{1,2)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$;与对照组治疗后比较²⁾ $P < 0.01$ (表3,4同)。

2.2 两组患者治疗24周后临床疗效比较 治疗组治疗24周后总反应率为93.88%,对照组为77.55%,治疗组明显高于对照组($P < 0.05$),见表2。

表 2 两组患者治疗24周后临床疗效比较

Table 2 Comparison of clinical efficacy between two groups after 24 weeks of treatment

组别	完全反应 /例	部分反应 /例	无反应 /例	复发 /例	总反应率 /%
对照	14	24	11	0	77.55
治疗	27	19	3	0	93.88 ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 两组患者治疗前后外周血中 Th17 和 Treg 细胞比较 两组治疗后外周血中 Th17 细胞均明显减少,而 Treg 增多($P < 0.01$);治疗后治疗组外周血中 Th17 细胞低于对照组,而 Treg 细胞明显高于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表3。

2.4 两组患者血清 IL-17,IL-6 和 TGF- β 水平比较

两组患者治疗后血清 IL-17 和 IL-6 水平均明显降低,而 TGF- β 升高($P < 0.01$);治疗后治疗组血清 IL-17 和 IL-6 均水平明显低于对照组,而 TGF- β 高于对照组,比较差异均有统计学意义($P <$

表 3 两组患者外周血中 Th17 和 Treg 细胞比较 ($\bar{x} \pm s, n = 49$)

Table 3 Comparison of Th17 and Treg cells in peripheral blood between two groups ($\bar{x} \pm s, n = 49$)

组别	时间	Th17	Treg
对照	治疗前	0.91 ± 0.11	1.98 ± 0.21
	治疗后	0.72 ± 0.09 ¹⁾	3.66 ± 0.45 ¹⁾
治疗	治疗前	0.93 ± 0.14	1.96 ± 0.23
	治疗后	0.57 ± 0.07 ^{1,2)}	5.52 ± 0.59 ^{1,2)}

0.01),见表4。

表 4 两组患者血清 IL-17,IL-6 和 TGF- β 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 49$)

Table 4 Comparison of IL-17, IL-6 and TGF- β levels in serum between two groups ($\bar{x} \pm s, n = 49$)

组别	时间	IL-17 /ng·L ⁻¹	IL-6 /ng·L ⁻¹	TGF- β / μ g·L ⁻¹
对照	治疗前	33.25 ± 3.51	29.67 ± 3.11	7.76 ± 0.86
	治疗后	17.68 ± 1.95	18.14 ± 1.87 ¹⁾	10.85 ± 1.22 ¹⁾
治疗	治疗前	32.94 ± 3.45	30.04 ± 3.24	7.82 ± 0.82
	治疗后	14.26 ± 1.57	14.22 ± 1.59 ^{1,2)}	14.72 ± 1.54 ^{1,2)}

3 讨论

PBC 病机较为复杂,病因仍有待于阐明,大多认为其与人体的自身免疫力、周围环境、遗传等因素相关;UDCA 为目前美国食品和药品监督管理局

(FDA)唯一批准用于临床治疗 PBC 的药物,以往研究认为其治疗 PBC 的可能机制有抑制胆管细胞凋亡、提升有益细胞因子表达以及保护肝细胞和胆管细胞等^[9]。本研究在对照组中给予 UDCA 干预治疗,在改善患者临床症状和生化指标方面均取得一定效果,本文的研究结果与以往相关报道一致^[10]。

依据 PBC 身目黄染、胁痛、口苦等症状,中医学将 PBC 归为“胁痛”、“黄疸”等疾病范畴,从病因方面分析该病主要与湿浊之邪相关;《金匱要略·黄疸病脉证并治》记载:“黄家所得,从湿得之。”内外湿邪滞于肝胆脾胃,引起脾胃运化失常,肝失疏泄,积块瘀阻胆道,胆汁不循常道,随血泛溢而致黄疸;《丹溪心法·疸》曰:“疸不用分其五,同是湿热。”若疫毒日久,邪热多入营分,可伤及营血,营阴瘀热,血脉不通,瘀热发于表而致黄。

清营活血汤以《温病条辨》古方清营汤为基本方,方中茵陈、金钱草、虎杖清肝胆湿热,退黄疸,兼活血解毒;水牛角有清灵之性,能解疫毒;黄连具苦降之质,可燥湿邪;故以地黄、玄参滋肾水,麦冬养肺金;金银花、连翘、淡竹叶三味,皆能内彻于心,外通于表,辛凉清解,自可神安热退,邪自不留;当归、丹参、牛膝活血养血,使消瘀而热散,新血生而营阴补;全方配伍,以清利湿热、和营解毒为主,配以养阴生津和“透热转气”,使入营之邪透出气分而解。

本研究显示,采取清营活血汤联合 UDCA 治疗 PBC 肝胆湿热证,从临床疗效分析发现,清营活血汤联合 UDCA 治疗患者总反应率高达 93.88%,明显优于对照组的 77.55%。

Th17 和 Treg 细胞属 Th 细胞亚群,在维持机体免疫平衡方面发挥作用。Th17 和 Treg 细胞平衡状态与 PBC 的发生和病程密切相关^[11]。本次结果显示,两组治疗后患者外周血中 Th17 细胞均明显减少,而 Treg 均明显增多;清营活血汤联合 UDCA 治疗较单纯 UDCA 可明显降低外周血中 Th17 细胞水平而升高 Treg 细胞;以上提示清营活血汤治疗 PBC 可能与其促进 Th17/Treg 比例平衡有关。

Th17 细胞分泌的因子主要有 IL-17 和 IL-6, Treg 细胞分泌的因子为 TGF- β 。IL-17 作为促炎细胞因子的一种,在 PBC 病程中主要聚集与胆管炎症损伤周围,介入胆管的慢性炎症病程中^[12]。研究发现,在机体稳定状态下 TGF- β 可抑制效应性 T 细胞功能,在 PBC 病程中 IL-6 大量释放,与 TGF- β 协同抑制 Treg 细胞分化,并诱导 Th17 细胞分化,最终引起炎症反应^[13]。结果显示,清营活血汤联合 UDCA

治疗较单纯 UDCA 明显降低患者血清 IL-17 和 IL-6 水平,同时提高 TGF- β 水平。改变 Th17/Treg 失衡并调节其分泌细胞因子水平可能是其作用机制之一,确切机制仍有待进一步探讨。

[参考文献]

- [1] Purohit T, Cappell M S. Primary biliary cirrhosis: Pathophysiology, clinical presentation and therapy [J]. World J Hepatol, 2015, 7(7): 926-941.
- [2] Gong Y, Huang Z, Christensen E, et al. Ursodeoxycholic acid for patients with primary biliary cirrhosis: an updated systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials using Bayesian approach as sensitivity analyses [J]. Am J Gastroenterol, 2007, 102(8): 1799-1807.
- [3] 杜莹, 方蕾. 中药汤剂/中成药联合熊去氧胆酸治疗原发性胆汁性肝硬化疗效的 Meta 分析 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(1): 68-73.
- [4] 张宁, 宫嫒, 孙永强, 等. 中药联合熊去氧胆酸治疗原发性胆汁性肝硬化疗效观察 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2013, 23(6): 346-348.
- [5] Heathcote E J. Management of primary biliary cirrhosis. The american association for the study of liver diseases practice guidelines [J]. Hepatology, 2000, 31(4): 1005-1013.
- [6] 中华中医药学. 中医内科常见病诊疗指南·西医疾病部分 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 145-148.
- [7] Kobayashi M, Ikeda K, Hosaka T, et al. Natural history of compensated cirrhosis in the Child-pugh class A compared between 490 patients with hepatitis C and 167 with B virus infections [J]. J Med virol, 2006, 78(2): 459-465.
- [8] 邱德凯, 马雄. 自身免疫性肝病基础与临床 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 110-111, 191-192.
- [9] Gong Y, Huang Z B, Christensen E, et al. Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2008, 16(3): CD000551.
- [10] 吴颖, 姚定康, 朱樑, 等. 熊去氧胆酸联合扶正化瘀胶囊治疗原发性胆汁性肝硬化临床观察 [J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(11): 1477-1482.
- [11] Zhang B, Hu M, Zhang P, et al. BAFF promotes regulatory T-cell apoptosis and blocks cytokine production by activating B cells in primary biliary cirrhosis [J]. Braz J Med Biol Res, 2013, 46(5): 433-439.
- [12] Qian C, Jiang T, Zhang W, et al. Increased IL-23 and IL-17 expression by peripheral blood cells of patients with primary biliary cirrhosis [J]. Cytokine, 2013, 64(1): 172-180.
- [13] 苏兰, 杨晋辉, 唐映梅. Th17/Treg 细胞在原发性胆汁性肝硬化发病中的作用研究进展 [J]. 实用肝脏病杂志, 2015, 18(2): 213-216.

[责任编辑 何希荣]