

· 临床 ·

防风通圣汤对乙肝慢加急性肝衰竭早期血清内毒素及程序性死亡因子-1/配体-1的影响

李建鸿, 邱腾宇, 莫小艾, 张磊, 庄健海, 蒋开平*
(佛山市中医院, 广东佛山 528000)

[摘要] 目的:明确防风通圣汤对乙肝慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)早期的血清内毒素(ET)及程序性死亡因子-1/配体-1(PD-1/PD-L1)的影响,深入了解防风通圣汤治疗乙肝慢加急性肝衰竭早期的作用机制。方法:入组69例HBV-ACLF早期患者,均给予常规抗病毒、护肝退黄及支持治疗。将患者随机分配至口服防风通圣汤的观察组35例,服用安慰剂的对照组34例,观察期3周。检测患者治疗前及治疗后1,2,3周的血清ET水平,血清CD4⁺,CD8⁺T细胞的PD-1/PD-L1的表达,肝功能[丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),白蛋白(Alb),总胆红素(TBIL),直接胆红素(DBIL)]及凝血功能[凝血酶原时间(PT),凝血酶原活动度(PTA)],前后比较以明确防风通圣汤作用效果。结果:与本组治疗前比较,两组患者在治疗3周后均出现血清ET显著下降($P<0.01$),血清CD4⁺PD-1⁺,CD4⁺PD-L1⁺,CD8⁺PD-1⁺,CD8⁺PD-L1⁺表达显著下降($P<0.01$),ALT,AST,TBIL,DBIL,PT显著下降($P<0.01$),Alb及PTA显著升高($P<0.01$)。与对照组同时时间点比较,观察组治疗后第1,2,3周血清ET更低($P<0.01$);观察组第2,3周血清CD4⁺PD-1⁺,CD4⁺PD-L1⁺,CD8⁺PD-1⁺,CD8⁺PD-L1⁺表达降低($P<0.05$, $P<0.01$);观察组第1,2,3周血清ALT,AST,TBIL,DBIL水平降低($P<0.05$, $P<0.01$);观察组第2,3周血清PT明显下降($P<0.05$),观察组第2,3周PTA显著升高($P<0.01$)。结论:防风通圣汤可能通过降低患者血清ET水平和血清CD4⁺,CD8⁺T细胞PD-1/PD-L1表达水平,从而达到治疗HBV-ACLF早期作用。

[关键词] 防风通圣汤;慢加急性肝衰竭;内毒素;程序性死亡因子-1/配体-1

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)20-0088-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201962

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200725.1606.005.html>

[网络出版日期] 2020-7-27 08:44

Effect of Fangfeng Tongshengtang on Early-stage Serum Endotoxin and Programmed Death-1 / Programmed Death Ligand-1 in Patients with Hepatitis B Virus related Acute-on-chronic Liver Failure

LI Jian-hong, QIU Teng-yu, MO Xiao-ai, ZHANG Lei, ZHUANG Jian-hai, JIANG Kai-ping*
(Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Foshan 528000, China)

[Abstract] **Objective:** To clarify the effect of Fangfeng Tongshengtang on early-stage serum endotoxin (ET) and programmed death-1/programmed ligand-1 (PD-1/PD-L1) in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure (HBV-ACLF) (early-stage), and exploring the mechanism of Fangfeng Tongshengtang in the treatment of early stage HBV-ACLF. **Method:** The 69 patients with early stage HBV-ACLF were enrolled in the study and all of them received antiviral drugs, liver protection and jaundice relieving drugs as well as supporting therapy. According to the random number table, 35 patients were randomly assigned to observation group (to take Fangfeng Tongshengtang, and 34 patients were assigned to control group to take

[收稿日期] 20191226(011)

[基金项目] 广东省中医药局科研项目(20181247);广东省名中医传承工作室建设项目(粤中医办函[2017]17号)

[第一作者] 李建鸿, 硕士, 副主任医师, 从事中西医结合肝病临床研究, E-mail: ameng77@126.com

[通信作者] * 蒋开平, 主任中医师, 教授, 硕士生导师, 从事中西医结合肝病临床研究, E-mail: jkpingfs@126.com

placebo. The observation period was 3 weeks in both groups. Before treatment and 1, 2, and 3 weeks after treatment, the serum ET, expression of PD-1/PD-L1 in serum CD4⁺ and CD8⁺ T cells, liver function [alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin (Alb), total bilirubin (TBIL), and direct bilirubin (DBIL)], coagulation function [prothrombin time (PT), and prothrombin activity (PTA)] were detected to verify the effect of Fangfeng Tongshengtang on HBV-ACLF (early-stage). **Result:** After 3 weeks of treatment, ET, expression of serum CD4⁺PD-1⁺, CD4⁺PD-L1⁺, CD8⁺PD-1⁺, CD8⁺PD-L1⁺, ALT, AST, TBIL, DBIL, and PT decreased significantly ($P<0.01$), while Alb and PTA increased significantly ($P<0.01$) in both groups. As compared with the control group, the ET in observation group was lower at 1st, 2nd and 3rd week after treatment ($P<0.01$), the CD4⁺PD-1⁺, CD4⁺PD-L1⁺, CD8⁺PD-1⁺ and CD8⁺PD-L1⁺ in observation group were lower at 2nd week and 3rd week ($P<0.05$, $P<0.01$), the ALT, AST, TBIL and DBIL in observation group were lower at 1st, 2nd and 3rd week ($P<0.05$, $P<0.01$), the PT in observation group was lower at 2nd and 3rd week ($P<0.05$), and the PTA in observation group was higher at the 2nd and 3rd week ($P<0.01$). **Conclusion:** Fangfeng Tongshengtang can achieve the therapeutic effect for HBV-ACLF (early-stage) probably by reducing the serum ET and the expression of PD-1 / PD-L1 in serum CD4⁺, CD8⁺ T cells.

[Key words] Fangfeng Tongshengtang; acute-on-chronic liver failure (HBV-ACLF); endotoxin (ET); programmed death-1/programmed ligand-1 (PD-1/PD-L1)

肝衰竭是多种因素引起的严重肝脏损害,导致其合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿,出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床证候群,在中国引起肝衰竭的首要病因是肝炎病毒(主要是HBV)^[1]。乙肝慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)是肝衰竭的常见类型,由于HBV-ACLF的发病机制尚未完全明确,且缺少可靠的临床评估指标和特异有效的治疗药物,使得病情进展迅速、总体预后差,病死率高,目前HBV-ACLF已成为世界性的治疗难题^[2]。中国《肝衰竭诊治指南(2012年版)》根据ACLF临床表现的严重程度,将其分区为早期、中期和晚期,临床如能有效阻止肝衰竭早期向中晚期进展,则可大大降低患者病死率。国内有学者从辨证论治与分期治疗出发,在西医治疗的基础上积极运用中药治疗HBV-ACLF,使HBV-ACLF治疗的有效率和生存率大幅提升^[3-6],充分展现了中医药治疗HBV-ACLF的良好前景。

防风通圣散(汤)源自刘完素《宣明论方》,广东省名中医蒋开平教授诊治HBV-ACLF时,在运用抗病毒、护肝等综合治疗手段的基础上,根据多年临床经验使用防风通圣汤来干预HBV-ACLF早期病情,课题组通过回顾性分析佛山市中医院肝病科使用防风通圣汤治疗的HBV-ACLF早期病例发现,防风通圣汤是治疗乙肝慢加急性肝衰竭早期的有效药物^[7]。虽然防风通圣汤已被证实是治疗HBV-ACLF早期的有效药物,但对其临床作用机制尚未

明确。本研究拟在以往研究基础上,再次选择HBV-ACLF早期患者为研究对象,通过观察防风通圣汤对血清内毒素(ET)及外周血T细胞程序性死亡因子-1/配体-1(PD-1/PD-L1)的影响,进一步阐释防风通圣汤治疗HBV-ACLF早期的作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究经佛山市中医院伦理委员会审核批准,符合医学伦理学要求,批件号【2017】005,所有患者签署知情同意书后入组。参加研究的70例患者均为2018年1月至2019年4月在佛山市中医院肝病科住院的HBV-ACLF早期患者。以随机表分为观察组和对照组。观察组35例,男30例,女5例,年龄22~56岁,平均(35.52±7.22)岁,病程2~9年,平均(6.13±1.12)年。对照组35例,男29例,女6例,年龄24~57岁,平均(36.39±7.35)岁,病程3~10年,平均(6.31±1.26)年。观察期间,观察组无脱落,对照组脱落1例。两组患者性别、年龄等基线资料比较,差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 诊断、纳入、排除标准

1.2.1 诊断标准 患者发病有明确慢性乙肝病史,参照《肝衰竭诊治指南(2012年版)》^[1]中有关ACLF早期的诊断标准,在慢性肝病基础上,短期内发生急性或亚急性肝功能失代偿的临床证候群,表现为①极度乏力,并有明显厌食、呕吐和腹胀等严重消化道症状;②黄疸进行性加深(血清总胆红素 $\geq 17.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 或每日上升 $\geq 17.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$);③有出血倾向,30%<凝血酶原活动度(PTA) $\leq 40\%$;④未出

现肝性脑病或明显腹水。中医诊断标准参照《中医内科病证诊断疗效标准》^[8]中有关黄疸病肝胆湿热证的诊断标准,黄疸病是目黄、肤黄、尿黄,以目黄为主的疾病,初起有恶寒发热,纳呆厌油,恶心呕吐,神疲乏力,或大便颜色变淡,黄疸严重者皮肤瘙痒。肝胆湿热证,身目俱黄,黄色鲜明。发热口渴,心中懊恼,口干而苦,恶心想吐,腹满胁痛,大便秘结或呈灰白色,小便短黄。舌红,苔黄腻,脉弦数。

1.2.2 纳入标准 ①符合HBV-ACLF早期西医诊断标准和中医诊断标准;②依从性良好且愿意参加本试验的患者;③年龄在18~60岁,男女不限;④均知情同意并签署知情同意书。

1.2.3 排除标准 ①合并甲型、丙型或戊型等其他病毒性肝炎者;②近1月内有使用明确损肝药物者;③酒精性肝损害、遗传代谢性肝脏疾病或自身免疫性肝脏疾病者;④合并肝脏肿瘤者;⑤肝硬化失代偿期者。

1.3 治疗方法

1.3.1 治疗方案^[1] 两组患者均接受,①护肝退黄及支持治疗,异甘草酸镁注射液(江苏正大天晴药业股份有限公司,国药准字H20051942)200 mg·d⁻¹,还原型谷胱甘肽注射液(重庆药友制药有限责任公司,国药准字H19991068)1.6 g·d⁻¹,注射用丁二磺腺苷蛋氨酸(浙江海正药业股份有限公司,国药准字H20103110)1.0 g·d⁻¹,白蛋白注射液10~20 g·d⁻¹,冰冻血浆400~600 mL·d⁻¹。②抗病毒治疗,马来酸恩替卡韦片(正大天晴药业集团股份有限公司,国药准字H20120039)0.5 mg·d⁻¹。③卧床,补液以及对症处理。

1.3.2 中药治疗 观察组口服防风通圣汤(防风10 g,大黄10 g,芒硝10 g,荆芥10 g,麻黄10 g,栀子15 g,白芍20 g,连翘15 g,甘草片5 g,桔梗10 g,川芎10 g,当归15 g,石膏30 g,滑石20 g,薄荷5 g,黄芩片10 g,白术15 g)。饮片来自佛山市中医院中药房,由中药制剂中心蓝义坤副主任药师鉴定均为正品,经本院药剂科代煎为剂,1剂/d,每剂煎至300 mL(生药含量0.73 g·mL⁻¹),150 mL/次,2次/d。对照组服用中药安慰剂,安慰剂制作采用“5%原药+大米”煎煮方案制作^[9],安慰剂外观及口味尽量与治疗药物保持一致,安慰剂由佛山市中医院中药制剂中心负责制作,服用方法和服用剂量与观察组一致。

1.4 观察指标与检测方法

1.4.1 ET水平 采用鲎试剂与鲎三肽的偶氮基质

显色法检测。留取空腹肘静脉血3~5 mL至干燥无热原肝素试管,2 h内分离血清,放置-80 °C冰箱冻存,进行成批检测。试剂及标准品由上海伊华临床医学科技公司提供,批号20171006,20180514。

1.4.2 外周血T细胞PD1/PD-L1表达^[10] 留取空腹静脉全血3~5 mL至EDTA抗凝试管。另备3个试管,一试管加鼠抗人抗体异硫氰酸荧光素(FITC)-CD4,藻红蛋白(PE)-Cy5-CD8和PE-IgG1;一试管加FITC-CD4,PE-Cy5-CD8和PE-PD-1;另一试管加FITC-CD4,PE-Cy5-CD8和PE-PD-L1,各试管加入EDTA抗凝全血后避光孵育;加红细胞裂解液,磷酸盐缓冲液洗涤后,标本立即上流式细胞仪检测。FITC标记的小鼠抗人CD4,CD8单克隆抗体及其同型对照IgG1-FITC试剂盒购自美国eBioscience公司,批号8546733;PE标记的小鼠抗人PD-1,PD-L1单克隆抗体及其同型对照IgG1-PE试剂盒购自美国eBioscience公司,批号8546735;红细胞裂解液购自美国BD公司,批号17-0054-82;以上指标使用Navios EX型流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司)检测。

1.4.3 肝功能 血清总胆红素(TBIL),直接胆红素(DBIL),血清丙氨酸氨基转移酶(ALT),天冬氨酸氨基转移酶(AST),白蛋白(Alb),以上指标留取空腹静脉血液标本,采用ADVIA2400-1型全自动生化分析仪(德国西门子公司)检测,试剂盒均购自德赛诊断系统(上海)有限公司,批号分别为07741,07432,07321,07511,07493。

1.4.4 凝血功能 凝血酶原时间(PT),凝血酶原活动度(PTA),以上指标留取空腹静脉血液标本,采用Sysmex CA-8000型全自动凝血分析仪[希森美康医用电子(上海)有限公司],试剂盒均购自德国Siemens Healthcare Diagnostic Products GmbH公司,批号分别为2017120403,2018032409。

以上指标于患者治疗前及治疗后1,2,3周检测,用以评估防风通圣汤对HBV-ACLF早期患者的影响。

1.5 统计学方法 采用SPSS 22.0软件统计,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清ET水平比较 与本组治疗前比较,两组治疗后第3周血清ET水平均显著下降($P<0.01$)。与对照组治疗第1,2,3周时比较,观察组血清ET水平在同时间点均下降更显著($P<0.01$)。

见表1。

表1 两组患者治疗前后血清ET变化比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum endotoxin between two groups before and after treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	ET/U·L ⁻¹
观察	35	治疗前	42.15±5.34
		1周	34.29±4.27 ²⁾
		2周	23.79±3.03 ²⁾
		3周	10.33±1.87 ^{1,2)}
对照	34	治疗前	43.01±5.71
		1周	37.15±4.31
		2周	26.04±3.27
		3周	12.32±2.05 ¹⁾

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P<0.01$;与对照组治疗后同时时间比较²⁾ $P<0.01$ 。

2.2 两组患者血清PD-1/PD-L1表达比较 与本组治疗前比较,两组治疗后第3周血清CD4⁺PD-1⁺, CD4⁺PD-L1⁺, CD8⁺PD-1⁺, CD8⁺PD-L1⁺表达均显著下降($P<0.01$)。与对照组治疗后第2周比较,观察组血清CD4⁺PD-1⁺, CD4⁺PD-L1⁺, CD8⁺PD-1⁺, CD8⁺PD-L1⁺表达明显下降($P<0.05$);与对照组治疗后第3周比较,观察组血清CD4⁺PD-1⁺, CD4⁺PD-L1⁺, CD8⁺PD-1⁺, CD8⁺PD-L1⁺表达显著下降($P<0.01$)。见表2。

2.3 两组患者肝功能比较 与本组治疗前比较,两组治疗后第3周血清ALT, AST, TBIL, DBIL均出现下降,血清Alb均显著升高($P<0.01$)。与对照组治疗后第1,2周比较,观察组血清ALT, AST, TBIL, DBIL明显下降($P<0.05$);与对照组治疗后第3周比较,观察组血清ALT, AST, TBIL, DBIL水平显著下降($P<0.01$)。见表3。

表3 两组患者治疗前后肝功能变化比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of liver function between two groups before and after treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	Alb/g·L ⁻¹	TBIL/ μ mol·L ⁻¹	DBIL/ μ mol·L ⁻¹
观察	35	治疗前	1 312.25±115.79	813.27±89.31	31.19±4.17	463.76±51.42	292.69±40.01
		1周	501.29±44.41 ²⁾	281.27±30.21 ²⁾	33.11±5.25	395.45±54.31 ²⁾	234.67±36.75 ²⁾
		2周	144.89±18.57 ²⁾	91.50±13.83 ²⁾	35.07±6.12	279.73±39.49 ²⁾	173.69±20.35 ²⁾
		3周	86.21±12.31 ^{1,3)}	70.49±11.24 ^{1,3)}	37.87±7.01 ¹⁾	180.79±26.96 ^{1,3)}	113.26±15.91 ^{1,3)}
对照	34	治疗前	1 353.43±112.21	832.45±91.22	30.94±4.44	473.12±53.07	287.37±39.89
		1周	533.15±47.11	319.37±37.20	32.57±5.10	438.25±63.28	289.32±46.35
		2周	157.03±19.47	98.48±14.01	34.12±5.32	304.26±48.09	198.52±22.82
		3周	99.37±14.04 ¹⁾	79.44±12.03 ¹⁾	36.23±6.84 ¹⁾	207.49±33.67 ¹⁾	125.97±17.31 ¹⁾

表2 两组患者治疗前后血清PD-1/PD-L1表达比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of serum PD-1/PD-L1 between two groups before and after treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	CD4 ⁺ PD-1 ⁺	CD4 ⁺ PD-L1 ⁺	CD8 ⁺ PD-1 ⁺	CD8 ⁺ PD-L1 ⁺
观察	35	治疗前	24.39±3.51	21.28±2.87	32.17±4.01	29.57±3.85
		1周	21.29±3.11	19.27±2.71	23.24±3.87	22.67±3.17
		2周	16.29±2.37 ²⁾	13.50±2.13 ²⁾	15.42±2.41 ²⁾	13.26±2.26 ²⁾
		3周	8.91±1.22 ^{1,3)}	6.79±1.01 ^{1,3)}	9.28±1.63 ^{1,3)}	7.79±1.32 ^{1,3)}
对照	34	治疗前	24.78±3.61	22.05±2.90	31.78±3.89	30.05±3.92
		1周	22.15±3.09	19.43±2.59	25.41±3.68	23.32±3.35
		2周	17.83±2.53	15.37±2.28	16.87±2.35	15.75±2.76
		3周	10.86±1.79 ¹⁾	8.28±1.31 ¹⁾	11.23±1.87 ¹⁾	9.72±1.87 ¹⁾

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P<0.01$;与对照组治疗同时时间比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ (表3,4同)。

2.4 两组患者凝血功能比较 与本组治疗前比较,两组治疗后第3周血清PT水平下降,PTA水平升高($P<0.01$)。与对照组治疗后第2,3周比较,观察组血清PT水平下降较多($P<0.05$),PTA水平显著升高($P<0.01$)。见表4。

2.5 安全性评价 观察组和对照组在研究期间,均未出现严重不良事件。观察组有21例患者在口服防风通圣汤期间出现腹泻症状,发生腹泻患者平均腹泻次数3.4次/d,腹泻发生平均时间4.2 d/例,对照组2例患者,观察组优于对照组($P<0.01$)。腹痛观察组有9例,对照组有1例,观察组优于对照组($P<0.01$)。中药口服结束后,上述症状自行消失。腹泻腹痛症状考虑与防风通圣汤中大黄,芒硝的通利泻下作用有关。以上不良事件均未影响患者完成此项研究。见表5。

3 讨论

ACLF是乙肝相关肝衰竭中最为常见的类型,

表4 两组患者治疗前后凝血功能比较($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of coagulation function between two groups before and after treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	PT/s	PTA/%
观察	35	治疗前	28.56±4.62	34.59±5.12
		1周	25.39±4.14	38.67±5.74
		2周	21.57±3.79 ²⁾	43.27±6.31 ²⁾
		3周	16.51±2.77 ^{1,3)}	49.07±6.93 ^{1,3)}
对照	34	治疗前	27.95±4.16	35.21±5.23
		1周	25.04±4.27	36.29±5.34
		2周	23.47±3.52	39.37±5.47
		3周	19.57±3.03 ¹⁾	43.26±6.17 ¹⁾

表5 两组患者不良事件发生率比较

Table 5 Comparison of incidence of adverse events between two groups

组别	例数	腹泻	腹痛
观察	35	22(62.86) ¹⁾	9(25.71) ¹⁾
对照	34	2(5.88)	1(2.94)

注:与对照组比较¹⁾P<0.01。

但直至2019年3月国内首版《慢加急性肝衰竭中医临床诊疗指南》^[11]发布之前,中医对其诊断治疗并无统一意见。以往中医根据其临床表现,多将其归为“黄疸”进行论治。《金匱要略·黄疸病脉证并治第十五》曰:“黄家所得,从湿得之”^[12],直接阐明黄疸的发生与“湿”密切相关,后世医家在此基础上,得出了“无湿不作疸”的结论。对于黄疸的治法,蒋开平教授在把握黄疸基本病机的基础上,结合仲景《伤寒杂病论》之法,提出了早期黄疸病应以清热利湿为主,汗、吐、下、和、温、清、补、消八法兼备,临床方能取得良效^[13]。蒋开平教授根据多年临床实践,认为HBV-ACLF早期发作时不仅有“身目黄染如橘皮,小便深黄似浓茶”的阳黄特征,更有寒热不适、头身困重、疲乏无力、口干口苦、恶心纳差、脘腹胀满、大便干结或黏滞不爽、舌红苔黄或舌质淡红苔黄白相兼而腻等系列兼证,病情呈现一派湿热疫毒蕴结之候。

防风通圣散(汤)源自刘完素《宣明论方》^[14],由防风、大黄、芒硝、荆芥、麻黄、栀子、芍药、连翘、甘草片、桔梗、川芎、当归、石膏、滑石、薄荷、黄芩片、白术、生姜等18味中药组成,汗、清、下、补并用,具有表里双解、前后分消之功,其补乃寓补养于散泻之中,使祛邪而不伤正,为表里、气血、三焦通治之剂^[15],故十分契合HBV-ACLF早期的病机。有鉴于此,蒋开平教授提出了“湿热疫毒为黄之治,亟为湿

热疫毒找出路,扬汤止沸、釜底抽薪并举,防风通圣散堪当大任”的学术观点,将防风通圣汤应用于HBV-ACLF早期治疗中。

本研究再次证实,防风通圣汤具有降低HBV-ACLF早期患者血清ALT,AST,TBIL水平,缩短PT以及提高PTA的作用,与对照组相比具有显著性差异,这与课题组以往研究结果相似^[7]。

防风通圣汤在改善HBV-ACLF早期患者肝功能及凝血功能时,课题组发现其可降低PD-1/PD-L1在外周血CD4⁺,CD8⁺细胞的表达水平,优于对照组。PD-1/PD-L1信号途径是负向调节细胞免疫反应的代表,具有抑制T淋巴细胞反应的作用。有研究证实慢性乙型肝炎患者外周血PD-1/PD-L1表达水平与ALT水平及HBV-DNA载量呈正相关,即ALT,HBV-DNA复制水平越高,PD-1/PD-L1表达越高,患者病情越严重^[16-17],而阻断慢性乙肝患者体内PD-1/PD-L1信号通路可部分恢复病毒特异性T细胞的功能^[18],从而缓解病情进展。PD-1在HBV-ACLF外周血CD8⁺T细胞表达上调,且与病情严重程度呈正比^[19],因此PD-1/PD-L1也被认为是诊断HBV-ACLF和判断病情发展的潜在生物标志物^[20]。除在HBV-ACLF外周血中观察到PD-1/PD-L1表达上调外,在HBV-ACLF肝组织中也可观察到汇管区及炎症区的PD-1及肝细胞上PD-L1表达明显上调,PD-1/PD-L1的升高与HBV-ACLF免疫功能紊乱有关,提示了病情加重^[21-22]。因此防风通圣汤下调血清CD4⁺,CD8⁺细胞的PD-1/PD-L1表达,可能是其临床疗效的作用机制之一。

另外,本研究中观察到,防风通圣汤有效降低了HBV-ACLF早期患者血清ET水平,与对照组比较有显著性差异。血清ET的主要成分脂多糖(LPS),存在于革兰氏阴性细菌细胞壁的外部结构中,动物实验证实各种实验性肝损伤多伴有ET血症(ETM)^[23]。有学者提出肝衰竭的三重打击学说,即ET血症是肝衰竭的第三重致命性打击^[24],临床观察发现HBV-ACLF患者ET血症发生率显著升高,ET与肝损害之间存在着密切的关系^[25-26],ET血症在肝衰竭病情发展中具有重要推动作用。防风通圣汤有效降低了HBV-ACLF早期患者血清ET水平,可能是其临床疗效的另一作用机制。

综上,防风通圣汤是治疗HBV-ACLF早期患者的有效药物,其临床作用有可能通过降低血清CD4⁺,CD8⁺等T细胞的PD-1/PD-L1的表达水平和减轻ACLF患者血清ET水平得以实现。目前研究

证实,HBV-ACLF发生时,患者肠道菌群出现明显失调,双歧杆菌属、乳杆菌属等有益菌显著减少,埃希菌属等致病菌过度生长,肠道黏膜通透性增加,肠道微生态屏障明显受损^[25],而血清ET来源也被证实主要源自肠道^[27]。中药从调控肠道菌群数目及比例、炎症因子、信号通路、基因等方面干预肠道微生态,具有调节肠道菌群、保护肠黏膜屏障、恢复肠道微生物多样性、增强免疫功能等作用。中药与肠道微生物之间有密切关联,两者相互影响。防风通圣汤在对HBV-ACLF患者的良性免疫调节、降低血清ET血症时,其对肠道微生态的影响值得进一步研究。

[参考文献]

[1] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012年版)[J]. 实用肝脏病杂志, 2013, 16(3):210-216.

[2] SARIN S K, KEDARISSETTY C K, ABBAS Z, et al. Acute-on-chronic liver failure: consensus recommendations of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) 2014 [J]. Hepatol Int, 2014, 8(4): 453-471.

[3] 周超,宫嫚,张宁,等. 中西医结合治疗方案干预乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭的疗效分析[J]. 中西医结合肝病杂志, 2019, 29(3):203-207.

[4] 吕超,毛德文,覃倩,等. 温阳化瘀退黄方治疗乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭的效果[J]. 中国医药导报, 2019, 16(30):142-146.

[5] 朱晓宁,汪静. 分阶段辨证论治停用抗病毒药物后乙型肝炎复发慢加急性肝衰竭1例[J]. 中西医结合肝病杂志, 2019, 29(5):466-467.

[6] 王秀峰,钟云青,张荣臻,等. 温阳化浊退黄汤治疗乙肝相关慢加急性肝衰竭的临床研究[J]. 中国中医急症, 2019, 28(9):1540-1542, 1546.

[7] 李建鸿,蒋开平,邱腾宇,等. 防风通圣散对乙型肝炎慢加急性(亚急性)肝衰竭早期的临床干预研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2018, 28(1):20-22.

[8] 黄疸的诊断依据、证候分类、疗效评定-中华人民共和国中医药行业标准《中医内科病证诊断疗效标准》(ZY/T001.1-94)[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(5):248.

[9] 唐旭东,卞立群,高蕊,等. 中药临床试验安慰剂制作探讨[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(7): 656-658.

[10] 蔡仁田,沈玲,张永臣,等. 慢性丙型肝炎患者T细胞PD-1表达特点及临床意义[J]. 南京大学学报:自然科学版, 2010, 46(5):602-606.

[11] 王宪波,王晓静. 慢加急性肝衰竭中医临床诊疗指南[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(3):494-503.

[12] 张仲景. 金匮要略[M]. 北京:中医古籍出版社, 1997:43.

[13] 蒋开平. 《金匮要略》黄疸病论治临床解析[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(2):385-387.

[14] 刘完素. 校正素问精要宣明论方[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2012:19-20.

[15] 颜正华. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006: 211-213.

[16] 彭建平,孙克伟,伍玉南,等. 慢性乙型肝炎患者树突状细胞诱导的HBV特异性细胞毒性T淋巴细胞PD-1的表达[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(12): 926-929.

[17] 朱琪,程变巧,林伟国,等. 慢性乙型肝炎HBVDNA载量与PD-1/PD-L1表达相关性研究[J]. 福建医药杂志, 2018, 40(1):8-10.

[18] 王琳,赵春楠,祁松楠,等. HBV慢性感染患者外周血CD8⁺T细胞程序性死亡受体-1和黏蛋白结构域-3的表达及意义[J]. 广东医学, 2014, 35(7): 1045-1047.

[19] CAO D, XU H, GUO G, et al. Intrahepatic expression of programmed death-1 and its ligands in patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. Inflammation, 2013, 36(1):110-120.

[20] 张玉玲,韩涛,张敏,等. 慢加急性肝衰竭预后标志物的研究进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2014, 30(10): 1078-1081.

[21] 刘晓燕. 乙型肝炎病毒感染慢加急性肝衰竭患者PD-1的表达研究[D]. 北京:中国人民解放军军医进修学院, 2009.

[22] XU H, CAO D, GUO G, et al. The intrahepatic expression and distribution of BTLA and its ligand HVEM in patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure[J]. Diagn Pathol, 2012, 7(1):142.

[23] 李筠. 内毒素在肝衰竭形成中的作用及中医药治疗[J]. 传染病信息, 2010, 23(5):260-262.

[24] 叶一农,高志良. 乙型肝炎肝衰竭发生机制中的三重打击[J]. 传染病信息, 2009, 22(5):276-279.

[25] 陈木兴,林涛发,谢丽平等. 肠道菌群失衡对乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者血浆降钙素原升高的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(8):880-884.

[26] 刘性涛. 慢加急性乙型肝炎肝衰竭患者血清内毒素和SIRS发生对多器官功能衰竭的影响[J]. 实用肝病杂志, 2017, 20(6):758-759.

[27] 陆苗青,余菲,许东. 内毒素在肝衰竭发生中的作用研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志, 2015, 25(4): 252-256.

[责任编辑 张丰丰]