

# 柴胡疏肝散对肝郁脾虚型非酒精性脂肪肝患者的临床疗效及肠道菌群的影响

谢维宁\*, 彭红兵, 李烨, 黄腊平, 陈声鑫, 吴艺锋, 李晔  
(广东省中西医结合医院, 广东佛山 528200)

**[摘要]** 目的:研究柴胡疏肝散对肝郁脾虚型非酒精性脂肪肝患者的临床疗效及肠道菌群的影响。方法:该研究纳入2019年1月至2020年1月在广东省中西医结合医院肝病门诊就诊的非酒精性脂肪肝(NAFLD)患者80例。随机分为治疗组(柴胡疏肝散组,  $n=40$ )和对照组(安慰剂组,  $n=40$ )。两组患者予生活方式干预作为基础方案。治疗组予口服柴胡疏肝散辨证加减;对照组口服安慰剂。每次1剂,分早晚服,疗程为12周。观察治疗前、后脂肪肝疗效;丙氨酸氨基转移酶(ALT),天冬氨酸氨基转移酶(AST),谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -GT);血脂:高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),总胆固醇(TC),甘油三酯(TG);炎症指标:白细胞介素(IL)-6, IL-1 $\beta$ , 外周血单个核细胞 Toll样受体-4(TLR-4)及肠道菌群变化。结果:彩超评估显示,治疗组总有效率81.08%(30/37),对照组总有效率68.57%(24/35)( $Z=2.67, P<0.05$ )。两组治疗后与基线的差值比较,治疗组治疗后BMI, ALT, AST, TC, LDL-C,  $\gamma$ -GT与基线的差值低于对照组,而HDL-C差值高于对照组( $P<0.05$ ),两组TG的差值差异无统计学意义。炎症因子、肝脏受控衰减系数(CAP)及肝脏硬度值(LSM)比较,两组治疗后与基线的差值比较,治疗组在IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TLR-4, CAP及LSM与基线差值显著低于对照组( $P<0.01$ )。肠道菌群治疗后比较,治疗组双歧杆菌及乳杆菌丰度显著升高,而大肠埃希菌及肠球菌丰度则显著下降( $P<0.01$ )。结论:生活方式干预基础上,柴胡疏肝散可以更好地改善NAFLD患者血脂代谢及肝功能,调节肠道菌群,抑制炎症因子水平。

**[关键词]** 柴胡疏肝散; 生活方式干预; 非酒精性脂肪肝; 肠道菌群

**[中图分类号]** R575;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)03-0129-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20210212

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20201130.1029.002.html>

**[网络出版日期]** 2020-11-30 11:26

## Liver with Liver Stagnation and Spleen Deficiency Syndrome and Intestinal Microflora

XIE Wei-ning\*, PENG Hong-bing, LI Ye, HUANG La-ping, CHEN Sheng-xin, WU Yi-feng, LI Ye  
(Guangdong Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine,  
Foshan 528200, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the clinical efficacy of Chaihu Shugansan on non-alcoholic fatty liver (NAFLD) patients with liver stagnation and spleen deficiency syndrome and its effect on intestinal flora. **Method:** The study was a single-center, randomized, single-blind, placebo-controlled clinical study involving 80 patients with NAFLD treated from January 2019 to January 2020 at our hospital. They were divided into two groups (Chaihu Shugansan group,  $n=40$ ) and control group (placebo group,  $n=40$ ). The two groups of patients were given lifestyle intervention as the basic protocol. The treatment group was orally given Chaihu Shugansan, and the control group was orally given placebo. The drugs were given twice in the morning and evening, 1 dose/time. Patients were followed up for 12 weeks. Before and after treatment, the efficacy on liver steatosis was observed by abdominal ultrasound and transient elastography (Fibroscan), levels of alanine aminotransferase

**[收稿日期]** 20200622(019)

**[基金项目]** 广东省中医药管理局项目(20191053);佛山市科技攻关项目(2018AB000062)

**[通信作者]** \* 谢维宁, 硕士, 副主任医师, 从事中西医结合防治肝病及感染性疾病研究, E-mail: xwn1219@qq.com

(ALT), aspartate aminotransferase (AST), glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GT), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), interleukin (IL)-6, IL-1 $\beta$ , Toll-like receptor-4 (TLR-4) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and intestinal flora were also detected. **Result:** There were 37 patients in the treatment group and 35 patients in the control group who finally completed the study protocol. The total effective rate of NAFLD in the treatment group (81.08%, 30/37) was higher than that in the control group (68.57%, 24/35) ( $Z=2.67, P<0.05$ ). The treatment group was superior to the control group in reducing the levels of BMI, ALT, AST, TC, LDL-C, TG,  $\gamma$ -GT and increasing the level of HDL-C ( $P<0.05$ ). The levels of pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6), the values of Controlled Attenuation Parameter (CAP), Liver Stiffness Measurement (LSM) and expression of TLR4 were down-regulated in the treatment group ( $P<0.01$ ). In addition, the treatment group showed increase in the abundance of beneficial bacteria (*Bifidobacterium* and *Lactobacillus*) and inhibited the abundance of pathogenic bacteria (*Enterobacter* and *Enterococcus*) in the gut ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** In addition to the lifestyle intervention, Chaihu Shugansan can improve lipid metabolism and liver function, regulate intestinal flora and inhibit the level of inflammatory factors in patients with NAFLD.

[Key words] Chaihu Shugansan; lifestyle interventions; nonalcoholic fatty liver disease; intestinal flora

非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 定义为无明确其他肝病病因的情况下存在显著的肝脏脂质积聚 (至少在 5% 的肝细胞中)<sup>[1-2]</sup>。NAFLD 被认为是导致全球肝病的主要因素之一, 患病率约为 25%~45%, 并出现年轻化趋势<sup>[3]</sup>。此外, NAFLD 与多种疾病有关, 包括肥胖, 2 型糖尿病, 高脂血症, 高血压, 心血管疾病和癌症等<sup>[4-5]</sup>。因此, NAFLD 给社会带来巨大的经济负担, 是严重影响人类健康的疾病之一<sup>[6]</sup>。但遗憾的是, NAFLD 发病机制仍未完全了解, 目前认为与胰岛素抵抗, 营养, 肠道微生物组以及遗传因素等有关<sup>[7]</sup>。近年来, 大量证据表明肠道微生物组生态失调在 NAFLD 进展中具有关键作用<sup>[8]</sup>。肠道菌群失调会增加肠道对细菌产物的渗透性, 促进能量吸收, 加重胰岛素抵抗, 促进肠道细菌移位和肝脏炎症<sup>[9]</sup>。由于目前全球尚无推荐对于 NAFLD 治疗有效的药物<sup>[10]</sup>, 而中医药治疗 NAFLD 有着显著的疗效和较低的副作用引起很多关注<sup>[11-12]</sup>。目前研究显示, 有 60 多个中草药和 30 种有效成分具有良好的降脂、肝脏保护及调节肠道菌群的作用<sup>[13]</sup>。

柴胡疏肝散是中国古代名方, 出自于《景岳全书》, 自古以来就被用于治疗“胁痛”“胆胀”等各种肝胆疾病。研究发现, 柴胡疏肝散对 NAFLD 患者有较好的临床疗效, 能改善 NAFLD 患者肝脏脂肪变及血脂水平<sup>[14]</sup>。此外, 动物实验表明, 柴胡疏肝散能够改善 NAFLD 大鼠体内炎症水平<sup>[15]</sup>, 降低 NAFLD 大鼠肠道大肠埃希菌, 葡萄球菌和韦荣氏

球菌, 提高厌氧支原体的丰度等作用<sup>[16]</sup>, 但尚未发现运用柴胡疏肝散对 NAFLD 患者肠道菌群影响的临床研究。笔者前期研究已经证明柴胡疏肝散具有防治 NAFLD, 改善血脂代谢紊乱, 减轻肝细胞脂肪病变, 减少炎症因子, 调节肝细胞线粒体解偶联蛋白 (uncoupling protein 2, UCP<sub>2</sub>) 及肝细胞磷脂酰肌醇 3-激酶 p85 $\alpha$  亚单位 (phosphatidylinositol 3 kinase adaptor subunit P85 $\alpha$ , PI3K p85 $\alpha$ ) 等作用<sup>[17-20]</sup>, 本研究是基于前期基础上, 探讨疏肝健脾法代表方柴胡疏肝散对 NAFLD 的临床疗效、炎症因子及肠道菌群的影响。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究为单中心、随机、单盲、安慰剂平行对照临床研究。纳入 2019 年 1 月至 2020 年 1 月在广东省中西医结合医院肝病门诊就诊的 NAFLD 患者 80 例。采用 SPSS 22.0 软件生成随机数, 对研究对象进行标记排序后, 按 1:1 的比例随机进入治疗组 (柴胡疏肝散组, 40 例) 和对照组 (安慰剂组, 40 例)。其中治疗组男性 32 例, 女 8 例, 年龄 (38.49 $\pm$ 9.47) 岁, 体质指数 (BMI) (26.10 $\pm$ 2.43) kg $\cdot$ m<sup>-2</sup>; 肝脏受控衰减系数 (CAP) 值 (273.95 $\pm$ 22.79) db $\cdot$ m<sup>-1</sup>, 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 74.00 (35.00, 100.00) U $\cdot$ L<sup>-1</sup>, 天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 60.00 (43.50, 83.50) U $\cdot$ L<sup>-1</sup>, 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) (1.92 $\pm$ 0.51) mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>, 低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) (3.43 $\pm$ 0.74) mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>; 总胆固醇 (TC) (6.23 $\pm$ 1.38) mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>, 甘油三酯 (TG) (3.12 $\pm$

1.07)  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 对照组男性 28 例, 女 12 例。年龄 (41.77±9.12) 岁, BMI (26.04±1.83)  $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$ , CAP 值 (275.69±25.17)  $\text{db} \cdot \text{m}^{-1}$ , ALT 68.00 (56.00, 89.00)  $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ , AST 65.00 (53.00, 85.00)  $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ , HDL-C (1.77±0.42)  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , LDL-C (3.64±0.96)  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , TC (5.79±1.35)  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , TG (2.91±1.09)  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。随访过程中, 治疗组及对照组分别有 3 例及 5 例患者脱落, 最终完成方案的治疗组有 37 例, 对照组有 35 例, 两组患者在基本资料方面比较, 差异无统计学意义, 具有可比性。

## 1.2 诊断标准

**1.2.1 西医诊断标准** 按照《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南 2010 年(修订版)》<sup>[21]</sup>的诊断标准纳入, ①肝脏彩超表现符合脂肪肝的诊断标准; ②无饮酒史或饮酒折合乙醇量 >140 g/周 (女性 <70 g/周); ③除外病毒性肝炎、药物性肝病、全胃肠外营养、肝豆状核变性、自身免疫性肝病等可导致脂肪肝的特定疾病; ④年龄 ≥16 岁, ≤60 岁。

**1.2.2 肝郁脾虚证诊断标准** 符合 2011 年《非酒精性脂肪性肝病的中西医结合诊疗共识意见》<sup>[22]</sup>中属于肝郁脾虚证型的 NAFLD 的患者, 主证为 ①胁肋胀闷; ②抑郁不舒; ③倦怠乏力; ④腹痛欲泻。次证为 ①腹胀不适; ②食欲不振; ③恶心欲吐; ④时欲太息。舌脉象: 舌质淡红, 舌苔薄白或白, 有齿痕, 脉弦细。证型确定: 具备主证 2 项目和次证 1 或 2 项, 参考舌脉象。

**1.3 纳入标准** ①符合上述 NAFLD 的西医诊断及中医肝郁脾虚诊断标准; ②年龄 ≥16 岁, ≤60 岁; ③本研究遵循赫尔辛基宣言, 每位参与者签署了知情同意书并通过广东省中西医结合医院伦理委员会审核(编号 2019-023-01)。

**1.4 排除标准** ①合并冠心病、肾脏疾病、肺部疾患等; ②有骨折、脑血管意外、心力衰竭病史; ③影像学提示肝硬化; ④入组前 1 个月使用过二甲双胍及调脂、保肝药物; ⑤妊娠或哺乳期妇女。

## 1.5 治疗方法

**1.5.1 中药及安慰剂干预** 治疗组口服柴胡疏肝散颗粒, 组成为柴胡 15 g, 陈皮 10 g, 川芎 15 g, 香附 15 g, 枳壳 15 g, 芍药 15 g, 甘草 10 g。合并痰湿者, 加用荷叶 15 g, 土茯苓 30 g; 湿热者, 加茵陈 15 g, 玉米须 10 g; 气虚明显者, 加黄芪 30 g, 五子毛桃 15 g; 瘀血者, 加姜黄 10 g, 山楂 15 g, 红曲 10 g; 对照组口服安慰剂; 主要成分为面粉, 配以辅料、香料制作而成。颜色、性状、药味与中药颗粒无明显区别, 以上

药物由广东一方制药有限公司提供(批号 7068501)。服用方法为早晚各 1 次, 每次 1 剂, 用开水 200 mL 化开后温服, 餐后服用; 疗程 12 周, 治疗期间患者每 1~2 周随访 1 次。

**1.5.2 生活方式干预** 参考《中国超重/肥胖医学营养治疗专家共识(2016 年版)》<sup>[23]</sup>, 采用 5+2 模式, 即 1 周中 5 天相对正常进食, 其他 2 天(非连续)限制能量摄入(女性约 2 100  $\text{kJ} \cdot \text{d}^{-1}$ , 男性约 2 500  $\text{kJ} \cdot \text{d}^{-1}$ )的膳食模式。要求患者使用 FatSecret APP 软件 (<https://www.fatsecret.cn/>), 记录轻断食日的饮食及热量。两组患者均采用生活方式干预作为基础干预方案, 疗程为 12 周。

## 1.6 检测指标

**1.6.1 患者一般资料** 性别、年龄和 BMI 水平等。

**1.6.2 实验室检测指标** 肝功能(ALT, AST,  $\gamma$ -GT)及血脂(TG, TC, HDL-C, LDL-C)采用日本 Olympus 公司 AU400 型全自动生化分析仪完; 外周血炎症因子白介素(IL)-6, IL-1 $\beta$ , 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )采用酶联免疫吸附测定(ELISA)(美国 Invitrogen 公司, 批号分别 170917156, 170916176, 180915476); 外周血单个核细胞 Toll 样受体-4(Toll-like Receptor 4, TLR-4)表达采用流式细胞仪检测(FACS Calibur, 美国 BD 公司, 批号 346715); 粪便菌群: 从粪便样品中提取基因组 DNA, 对细菌 16S rRNA V3~V4 区的保守序列进行扩增, 由广州金域检测并提供; Juniper Ultrasound System 脂肪肝的检测采用肝胆彩超(Siemens 公司)检测肝脏脂肪病变; 502 型肝脏瞬时弹性检测系统(法国 Echosens 公司)检测肝脏受控衰减系数(Controlled Attenuation Parameter, CAP)及肝脏硬度值(Liver Stiffness Measurement, LSM)。以上检测指标于治疗前、疗程结束后各检查 1 次。

**1.6.3 不良反应观察** 按《药物临床试验质量管理规范》要求进行观察。

## 1.7 NAFLD 疗效评估方法

**1.7.1 彩超评估方法** 参照 2011 年《非酒精性脂肪性肝病的中西医结合诊疗共识意见》<sup>[22]</sup>制定, 治愈, B 超复查脂肪肝特征消失; 显效, 脂肪肝 B 超病情分级减少 2 级(重度-轻度); 有效, 脂肪肝 B 超病情分级减少 1 级(重度-中度; 中度-轻度); 无效, 达不到有效标准者。

**1.7.2 肝脏瞬时弹性评估方法** 根据 CAP 评估脂肪肝病情<sup>[23-24]</sup>: 轻度脂肪肝  $230 \text{ db} \cdot \text{m}^{-1} < \text{CAP} \leq 252 \text{ db} \cdot \text{m}^{-1}$ ; 中度脂肪肝  $252 \text{ db} \cdot \text{m}^{-1} < \text{CAP} \leq 283 \text{ db} \cdot \text{m}^{-1}$ ; 重度脂肪

肝  $283 \text{ db} \cdot \text{m}^{-1} < \text{CAP}$ 。治愈  $\text{CAP} \leq 230 \text{ db} \cdot \text{m}^{-1}$ 。显效 CAP 值分级减少 2 级(重度-轻度);有效 CAP 值分级减少 1 级(重度-中度;中度-轻度),无效 CAP 达不到有效标准者。

**1.8 统计分析** 正态分布的计量资料以均数标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 *t* 检验,治疗前后的比较以配对 *t* 检验;由于两组间肠道菌群丰度基线不平衡,治疗后两组肠道菌群的比较,采用协方差分析。非正态分布的计量资料采用中位数和四分位数表示,组间及等级资料比较采用 Wilcoxon 秩和检验,治疗前后采用配对样本的 Wilcoxon 符号秩和检验,计数资料采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为有显著性差异。统计及制图

软件分别采用 SPSS 22.0 及 GraphPad Prism 7。

**2 结果**

**2.1 两组患者疗效比较** 采用等级资料比较的 Wilcoxon 秩和检验,彩超评估方法,治疗组痊愈 3 例,显效 18 例,有效 9 例,无效 7 例,总有效率 81.08%(30/37);对照组痊愈 0 例,显效 8 例,有效 16 例,无效 11 例,总有效率 68.57%(24/35),治疗组总有效率优于对照组( $Z=2.67, P < 0.01$ );肝脏瞬时弹性评估 CAP 值疗效,治疗组痊愈 2 例,显效 22 例,有效 3 例,无效 10 例,总有效率 72.97%;对照组痊愈 0 例,显效 6 例,有效 14 例,无效 15 例,总有效率 57.14%,治疗组总有效率优于对照组( $Z=3.19, P < 0.01$ )。柴胡疏肝散颗粒治疗前后效果比较见表 1。

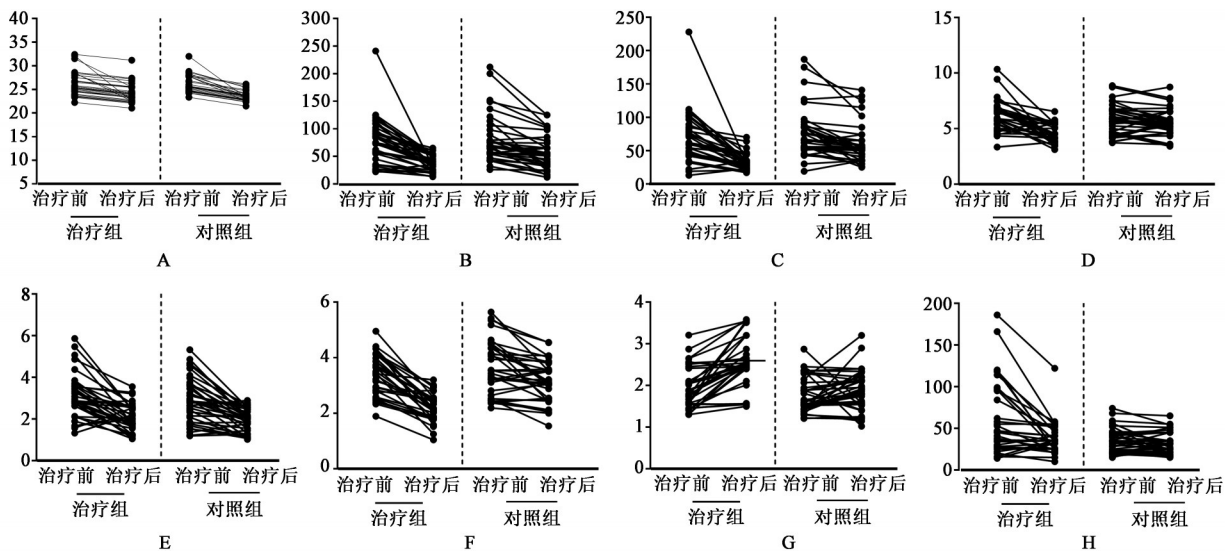
表 1 两组患者治疗前后效果比较

Table 1 Comparison of curative effect between two groups of patients

评估方式	组别	例数	治愈/例(%)	显效/例(%)	有效/例(%)	无效/例(%)	总有效率/%	Z	P
彩超评估	对照	35	0	8(22.86)	16(45.72)	11(31.43)	68.57	2.67	0.008
	治疗	37	3(8.11)	18(48.65)	9(24.32)	7(18.92)	81.08		
CAP	对照	35	0	6(17.14)	14(40%)	15(42.86)	57.14	3.19	0.002
	治疗	37	2(5.41)	22(59.46)	3(8.12%)	10(27.03)	72.97		

**2.2 两组治疗后 BMI 及生化指标与基线间的差值比较** 与本组治疗前比较,两组治疗后 BMI, ALT, AST, TG 及 LDL-C 水平下降( $P < 0.05$ )。此外,治疗组在 HDL-C, TC 及  $\gamma$ -GT 方面,有显著改善( $P < 0.05$ )。治疗后与对照组比较,治疗组在 BMI, ALT, AST, TC, HDL-C 及 LDL-C 的改善具有显著性差异

( $P < 0.05$ ),而在 TG,  $\gamma$ -GT 方面,无显著性差异,见表 2,3。两组治疗后与基线的差值比较,治疗组治疗后 BMI, ALT, AST, TC, LDL 及  $\gamma$ -GT 与基线差值显著低于对照组,而 HDL-C 差值高于对照组( $P < 0.05$ ),两组在 TG 差值方面差异无统计学意义。柴胡疏肝散颗粒治疗两前后 BMI,生化指标变化见图 1,表 2,3。



A. BMI( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$ ); B. ALT( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ ); C. AST( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ ); D. TC( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); E. TG( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); F. LDL-C( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); G. HDL-C( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); H.  $\gamma$ -GT( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )(图 2 同)

图 1 两组患者柴胡疏肝散颗粒治疗前后 BMI, ALT, AST, TC, TG, LDL-C, HDL-C,  $\gamma$ -GT 指标的变化

Fig. 1 Changes of BMI and ALT, AST, TC, TG, LDL-C, HDL-C,  $\gamma$ -GT in two groups before and after treatment of Chaihu Shugansan

表2 两组患者治疗前后对BMI,ALT,AST,γ-GT指标的影响

Table 2 Effect of differences between BMI,ALT,AST,γ-GT after treatment

组别	例数	时间	BMI( $\bar{x}\pm s$ )/kg·m <sup>-2</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>	γ-GT/U·L <sup>-1</sup>
对照	37	治疗前	26.10±2.43	68.00(56.00,89.00)	65.00(53.00,85.00)	34.00(21.70,44.00)
		治疗后	24.30±1.97	55.00(35.00,65.00)	54.00(41.00,65.00)	32.00(22.00,45.00)
治疗	35	治疗前	26.04±1.83	74.00(35.00,100.00)	60.00(43.50,83.50)	45.00(28.00,95.50) <sup>1)</sup>
		治疗后	23.50±1.07 <sup>1)</sup>	35.00(21.50,50.50) <sup>2)</sup>	32.00(23.50,39.50) <sup>2)</sup>	35.00(25.00,43.00)

注:与对照组同时时间点比较<sup>1)</sup>P<0.05,<sup>2)</sup>P<0.01。表3,4同。

表3 两组患者治疗前后对TC,HDL-C,LDL-C,TG的影响

Table 3 Effect of differences between TC,HDL-C,LDL-C,TG and baseline after treatment

组别	例数	时间	TC	HDL-C	LDL-C	TG
对照	37	治疗前	5.79±1.35	1.90(1.54,2.12)	3.08(2.54,3.55)	2.91±1.09
		治疗后	5.45(4.85,5.87)	1.90(1.54,2.12)	3.08(2.54,3.55)	2.02(1.45,2.45)
治疗	35	治疗前	6.23±1.38	2.54(2.42,3.04)	2.17(1.88,2.53)	3.12±1.07
		治疗后	4.52(3.80,5.42) <sup>2)</sup>	2.54(2.42,3.04) <sup>2)</sup>	2.17(1.88,2.53) <sup>2)</sup>	2.02(1.66,2.52)

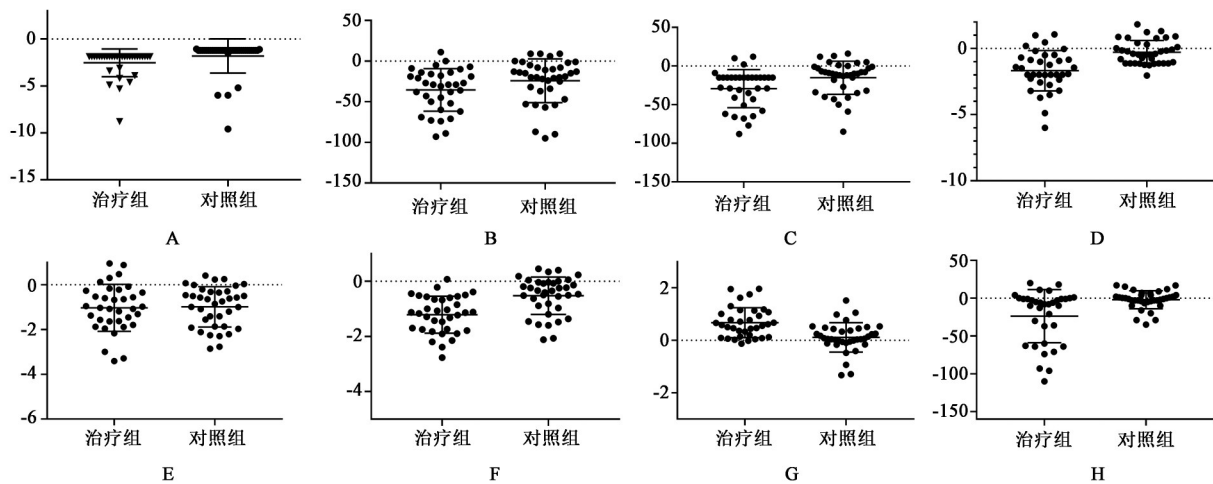


图2 两组患者治疗前后BMI,ALT,AST,TC,TG,LDL-C,HDL-C,γ-GT生化指标与基线的差值比较

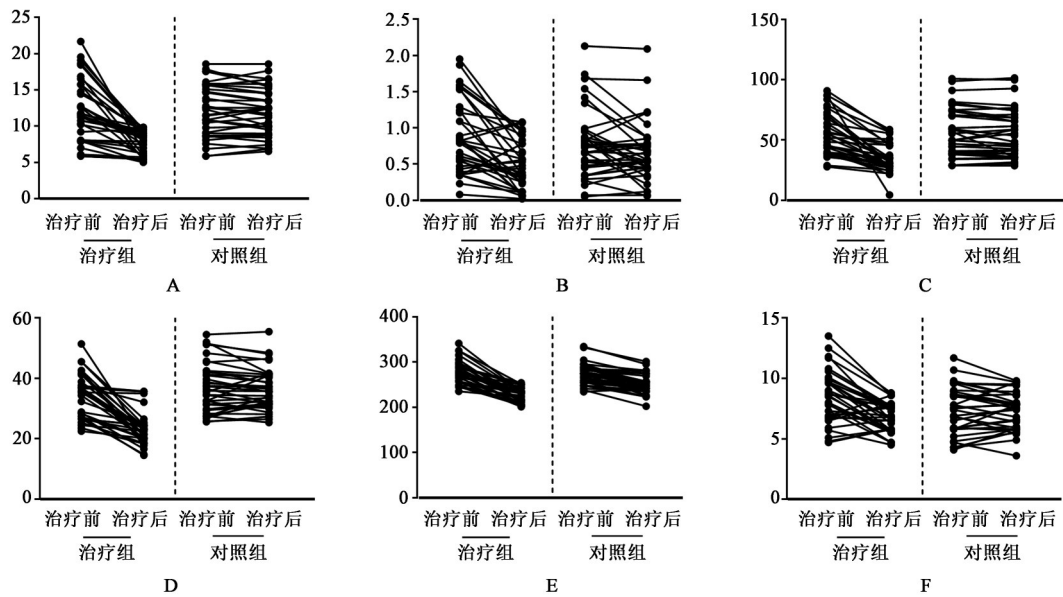
Fig. 2 Comparison of differences between BMI,ALT,AST,TC,TG,LDL-C,HDL-C,γ-GT and baseline after treatment of Chaihu Shugansan

**2.3 两组治疗后炎症因子及肝脏CAP,LSM与基线间的差值比较** 治疗前两组间的基线比较,两组在IL-6,TNF-α,IL-1β,TLR4,CAP及LSM等方面,无统计学意义。组内比较,与治疗前比较,治疗组在IL-6,TNF-α,IL-1β,TLR4,CAP及LSM方面治疗后有明显下降(P<0.01),而对照组CAP值明显下降(P<0.01),IL-6,TNF-α,IL-1β,TLR4及LSMU差异无统计学意义,见图3。治疗后组间比较,与对照组比较,治疗组在IL-6,TNF-α,TLR4及CAP方面有明显下降(P<0.01),而在IL-1β及LSM方面,两组比较无显著差异,见表4。两组治疗后与基线的差值比较,治疗组在IL-6,TNF-α,IL-1β,TLR4,CAP及LSM的差值显著低于对照组(P<0.01),见图4。

**2.4 两组肠道菌群属水平治疗前后比较** 根据文

献报道<sup>[25-26]</sup>,笔者分析了与脂肪肝密切关系的菌属分别为双歧杆菌属,乳杆菌属,埃希菌属及肠球菌属。结果显示,治疗前两组在双歧杆菌,肠杆菌,肠球菌相对丰度无显著性差异,而治疗组乳杆菌相对丰度较对照组显著升高(P<0.01)。基于两组治疗前基线的不平衡,以治疗前菌属丰度作为调整协变量,采用协方差分析两组治疗后各菌属的丰度比较。结果显示,治疗后与对照组比较,治疗组双歧杆菌及乳杆菌丰度显著升高,肠杆菌及肠球菌丰度显著下降(P<0.01),见表5。

**2.5 不良反应** 治疗过程中,治疗组有2例出现胃肠道反应,表现为轻度腹胀,腹泻。对照组有2例患者出现口干,纳差,腹泻。不良反应发生率分别为5.4%(2/37)和5.7%(2/35),两组间比较无显著差异。



A.IL-6( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ );B.IL-1 $\beta$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ );C.TNF- $\alpha$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ );D.TLR4(%);E.CAP( $\text{db}\cdot\text{m}^{-1}$ );F.LSM(kPa)(图4同)

图3 两组患者治疗前后炎症因子及肝脏CAP,LSM变化

Fig. 3 Changes of inflammatory factors, liver CAP and LSM before and after treatment of Chaihu Shugansan

表4 两组患者炎症因子及肝脏CAP,LSM比较

Table 4 Comparison of differences between inflammatory factors, liver CAP, LSM and baseline after treatment of Chaihu Shugansan

组别	例数	时间	IL-6/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	TNF- $\alpha$ / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	IL-1 $\beta$ / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	TLR4/%	CAP/ $\text{db}\cdot\text{m}^{-1}$	LSM/kPa
对照	37	治疗前	12.54(9.09, 15.54)	49.87(39.98, 70.66)	0.73(0.45, 0.87)	35.90(29.80, 42.00)	273.95 $\pm$ 22.79	7.48 $\pm$ 1.94
		治疗后	12.45(9.54, 14.54)	48.45(38.74, 68.41)	0.56(0.45, 0.78)	35.7(31.57, 41.15)	256(241, 274)	7.80(5.90, 8.00)
治疗	35	治疗前	11.75(8.65, 15.25)	51.73(39.76, 65.95)	0.82(0.50, 1.23)	35.40(27.40, 38.25)	275.69 $\pm$ 25.17	8.48 $\pm$ 2.17
		治疗后	8.47(6.09, 9.05) <sup>2)</sup>	31.54(28.09, 45.40) <sup>2)</sup>	0.44(0.24, 0.78)	22.8(20.10, 24.50) <sup>2)</sup>	225(206, 235) <sup>2)</sup>	6.80(5.75, 7.65)

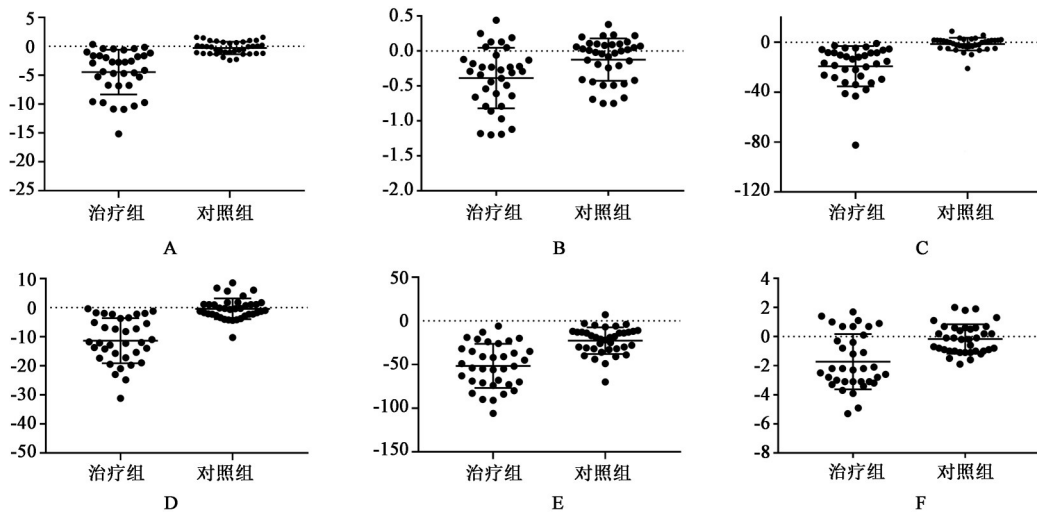


图4 两组患者治疗后炎症因子及肝脏CAP,LSM与基线间的差值比较

Fig. 4 Comparison of differences between inflammatory factors, CAP, LSM and baseline after treatment of Chaihu Shugansan

研究中未出现严重不良事件。

### 3 讨论

非酒精性脂肪肝是一个广泛的健康问题,全球范围内超过80%的肥胖者都患NAFLD<sup>[27]</sup>。研究表

明NAFLD是肝细胞癌发生的重要原因之一,其发病率每年约10%的速度增长<sup>[28]</sup>。NAFLD的发病机制至今尚不清楚,目前全球范围尚无被批准用于NAFLD的药物<sup>[29-30]</sup>。因此,许多患者NAFLD将寻

表5 两组患者在肠道双歧杆菌、乳杆菌、埃希菌及肠球菌属级水平上治疗前后丰度比较

Table 5 Abundance of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterobacter* and *Enterococcus* at genus-level in intestine of two groups before and after treatment

组别	例数	时间	双歧杆菌 ( $\times 10^{-3}$ )	乳杆菌 ( $\times 10^{-2}$ )	埃希菌 ( $\times 10^{-3}$ )	肠球菌 ( $\times 10^{-3}$ )
对照	35	治疗前	3.0 $\pm$ 1.81	2.21 $\pm$ 1.33	2.59 $\pm$ 1.43	1.73 $\pm$ 1.13
		治疗后	2.54 $\pm$ 1.67	2.91 $\pm$ 1.33	3.09 $\pm$ 1.45	1.97 $\pm$ 1.48
治疗	37	治疗前	3.29 $\pm$ 2.01	3.15 $\pm$ 1.51	3.14 $\pm$ 1.89	2.31 $\pm$ 1.64
		治疗后	5.15 $\pm$ 2.82 <sup>2)</sup>	4.98 $\pm$ 2.79 <sup>2)</sup>	2.07 $\pm$ 1.78 <sup>2)</sup>	1.23 $\pm$ 1.42 <sup>1)</sup>

注:与对照组相同时间点比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

求中医干预,特别是中草药的帮助。课题组前期临床及动物实验研究已经证明柴胡疏肝散为基础方具有防治NAFLD的疗效<sup>[17-20]</sup>。本研究是单中心,随机,单盲,安慰剂平行对照临床试验,以生活方式干预基础上,研究柴胡疏肝散对NAFLD患者的临床疗效及肠道菌群的影响。

中医认为,NAFLD可归于“胁痛”“积聚”等范畴,笔者曾对其病因病机进行综述分析<sup>[31-33]</sup>,认为其主要病因多为过食膏粱厚味、肥甘之品;忧思郁结,情志失调;养尊处优、过度安逸等;对其病机的认识,认为是肝失疏泄,气机不畅,或脾不健运,水湿内停,湿热内蕴,痰浊郁结,瘀血阻滞,最终形成湿浊痰瘀互结,痹阻肝脏脉络而形成脂肪肝。有学者认为<sup>[34]</sup>,在NAFLD发生发展过程中,无论是在疾病初起或是久病不愈者皆可见肝郁脾虚之证,疏肝健脾法理应贯穿始终。同时,辨证加用祛湿、化痰、活血等药往往可以提高疗效、缩短病程。因此,以柴胡疏肝散为疏肝健脾法代表古方,有良好的临床疗效<sup>[14,17]</sup>。

柴胡疏肝散出自《景岳全书》,主要组成北柴胡、白芍、川芎、陈皮、香附、枳壳、甘草7味药,是治疗肝郁气滞证的经典方药。具有疏肝解郁的功效。广泛运用于各种肝脏疾病。

本研究结果显示。临床疗效比较,从肝胆彩超角度评估,治疗组总有效率81.08%,对照组总有效率68.57%;从肝脏受控衰减系数角度评估,治疗组总有效率72.97%,对照组总有效率57.14%,两组疗效比较都具有显著性差异,研究结果提示,生活方式干预治疗NAFLD有效,这与国内外指南推荐的意见一致<sup>[21,30]</sup>;而生活方式干预联合柴胡疏肝散治疗,可提高治疗NAFLD的临床疗效,提示柴胡疏肝散与生活方式干预治疗NAFLD,具有协同增效的

作用。对NAFLD患者BMI及血脂的影响研究结果显示,与治疗前比较,无论是生活方式干预,还是联合柴胡疏肝散,都能显著降低NAFLD患者BMI,ALT,AST,TG及LDL-C的水平,除此之外,柴胡疏肝散还能够改善NAFLD患者的HDL-C,TC及 $\gamma$ -GT水平。治疗后比较,与生活干预组比较,柴胡疏肝散对于NAFLD患者BMI,ALT,AST,TC,HDL-C及LDL-C水平具有更显著地改善作用,而两组在TG及 $\gamma$ -GT方面的改善无显著性差异。两组治疗后与基线的差值比较,柴胡疏肝散治疗后BMI,ALT,AST,TC,LDL及 $\gamma$ -GT与基线差值显著低于对照组,而HDL-C差值高于生活方式干预组,差异具有统计学意义。以上结果表明,无论从治疗后的BMI,血脂比较还是治疗后与基线的差值比较,提示在生活方式干预的基础上,柴胡疏肝散加减方治疗NAFLD具有更好的控制体质量、调节血脂的作用。这与张良登等<sup>[35]</sup>研究一致,该系统评价与Meta分析结果显示,含柴胡疏肝散试验组在RCT中被证实有效与安全。有6个RCT柴胡疏肝散组治疗后显示能显著降低TC,TG及LDL-C水平,有6个RCT组治疗后显示能显著降低ALT,AST水平,有9个RCT试验组治疗后总有效率优于对照组,提示柴胡疏肝散试验组治疗NAFLD有较好疗效,能有效改善症状、肝功能、血脂等次要终点指标。

NAFLD的发生发展,与肠道菌群-炎症因子关系密切,目前认为,肠-肝轴是肠道菌群作用于NAFLD的重要途径。肠道细菌的产物,如脂多糖(LPS),细菌DNA等具有潜在的肝毒性,能促进肝脏炎症及纤维化进程。这些细菌产物作用于细胞表面多种模式识别受体激活细胞,产生一系列炎症反应。Toll样受体是一类天然免疫关键受体,属于I型跨膜受体<sup>[36]</sup>。TLR4受体是Toll样受体成员之一,是LPS的受体,TLR4作为LPS的受体,LPS/TLR4通路可以诱导炎症如IL-18,IL-1 $\beta$ ,IL-6等、介导氧化应激、参与胰岛素抵抗从而在NAFLD的发病机制中起到关键性的作用<sup>[37]</sup>。本研究结果显示,组内比较,与治疗前比较,治疗组患者IL-6,TNF- $\alpha$ ,IL-1 $\beta$ ,TLR4,CAP及LSM方面有明显下降,而对照组仅在CAP方面有显著差异,IL-6,TNF- $\alpha$ ,IL-1 $\beta$ ,TLR4及LSM方面则无显著性差异。治疗后组间比较,与对照组比较,治疗组在IL-6,TNF- $\alpha$ ,TLR4及CAP方面有明显下降,而在IL-1 $\beta$ 及LSM方面,两组比较无显著差异。两组治疗后与基线的差值比较,治疗组在IL-6,TNF- $\alpha$ ,IL-1 $\beta$ ,TLR4,CAP及LSM与

基线差值显著低于对照组。提示生活方式干预能显著改善患者脂肪病变(CAP值),但对于NAFLD患者的炎症因子及肝脏硬度则无显著改善作用,而柴胡疏肝散除了能够改善NAFLD患者脂肪病变,同时可降低患者炎症因子及肝脏硬度值。

研究显示,NAFLD患者存在肠道菌群的紊乱,表现为部分细菌属丰度上升,如乳球菌属、肠杆菌属、粪肠球菌、韦荣球菌属等;部分细菌属下调,如乳杆菌属、罗氏菌属、双歧杆菌属等<sup>[26,38]</sup>。本课题组筛选出几个与NAFLD关系密切的代表细菌属(双歧杆菌属,乳杆菌属;肠杆菌属及肠球菌属)进行16sRNA分析。结果显示,治疗前两组在双歧杆菌,肠杆菌,肠球菌相对丰度无显著性差异,而治疗组乳杆菌相对丰度较对照组显著升高。与对照组比较,治疗组治疗后双歧杆菌及乳杆菌丰度显著升高,而肠杆菌及肠球菌丰度则显著下降。提示生活方式干预基础上,柴胡疏肝散能显著改善NAFLD患者的菌群,提高对NAFLD有益的菌群,降低有害菌。这与易艳容等<sup>[39]</sup>的研究类似,该研究显示,NAFLD患者肠道双歧杆菌及乳杆菌数量下降,肠球菌及肠杆菌数量显著上升,NAFLD患者存在有益菌下降,有害菌及中性菌增加,提示肠道微生态失衡可能参与了NAFLD的发生发展。本课题组研究表明,经柴胡疏肝散治疗后,有益菌双歧杆菌及乳杆菌升高,炎症因子改善,NAFLD得到改善,提示柴胡疏肝散具有调节肠道菌群紊乱,降低炎症因子,治疗NAFLD的作用。

综上所述,在生活方式干预基础上,柴胡疏肝散具有更好的控制体质量、调节血脂的作用,可提高NAFLD患者双歧杆菌、乳杆菌丰度,降低肠球菌及肠杆菌属的丰度,抑制NAFLD患者炎症因子水平,更好地治疗脂肪肝的作用。有必要扩大样本量,进一步深入进行临床研究。

#### [参考文献]

[1] YOUNOSSI Z M, KOENIG A B, ABDELATIF D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes[J]. *Hepatology*, 2016, 64(1): 73-84.

[2] BYRNE C D, TARGHER G. NAFLD: a multisystem disease[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(1 Suppl): S47-64.

[3] RINELLA M E. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review[J]. *JAMA*, 2015, 313(22): 2263-2273.

[4] BALLESTRI S, ZONA S, TARGHER G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome. Evidence from a systematic review and meta-analysis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2016, 31(5): 936-944.

[5] ADAMS L A, ANSTEE Q M, TILG H, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and its relationship with cardiovascular disease and other extrahepatic diseases [J]. *Gut*, 2017, 66(6): 1138-1153.

[6] YOUNOSSI Z M, BLISSETT D, BLISSETT R, et al. The economic and clinical burden of nonalcoholic fatty liver disease in the United States and Europe [J]. *Hepatology*, 2016, 64(5): 1577-1586.

[7] BUZZETTI E, PINZANI M, TSOCHATZIS E A. The multiple-hit pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Metabolism*, 2016, 65(8): 1038-1048.

[8] LEUNG C, RIVERA L, FURNESS J B, et al. The role of the gut microbiota in NAFLD [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(7): 412-425.

[9] BASHIARDES S, SHAPIRO H, ROZIN S, et al. Non-alcoholic fatty liver and the gut microbiota [J]. *Mol Metab*, 2016, 5(9): 782-794.

[10] ISSA D, PATEL V, SANYAL A J. Future therapy for non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Liver Int*, 2018, 38(Suppl 1): 56-63.

[11] YIN J, ZHANG H, YE J. Traditional chinese medicine in treatment of metabolic syndrome [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2008, 8(2): 99-111.

[12] SHI K Q, FAN Y C, LIU W Y, et al. Traditional Chinese medicines benefit to nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(10): 9715-9722.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015.

[14] 张林. 柴胡疏肝散治疗非酒精性脂肪肝临床疗效观察 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2013, 11(8): 90-91.

[15] 金玲, 杨钦河, 张玉佩, 等. 疏肝健脾方药对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 IL-1 的影响 [J]. *暨南大学学报:医学版*, 2012, 33(2): 162-166.

[16] LIANG Y, ZHANG Y, DENG Y, et al. Chaihu-shugan-san decoction modulates intestinal microbe dysbiosis and alleviates chronic metabolic inflammation in NAFLD rats via the NLRP3 inflammasome pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 9390786.

- [17] 李玉权,杨钦河,谢维宁,等. 疏肝健脾法治疗非酒精性脂肪肝35例[J]. 中医杂志,2007,48(9):824-825.
- [18] 杨钦河,欧健,孙升云,等. 疏肝健脾方药对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝细胞PI3K p85 $\alpha$ 蛋白表达的影响[J]. 广东药学院学报,2009,25(1):62-67.
- [19] 杨钦河,陈同炎,李娜,等. 疏肝健脾方药对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝组织UCP2 mRNA及蛋白表达的影响[J]. 安徽中医学院学报,2010,29(2):56-59
- [20] 李焯,黄腊平,彭红兵,等. 非酒精性脂肪肝的中西医结合治疗[J]. 中国临床实用医学,2010,4(1):199-201.
- [21] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南2010年(修订版)[J]. 中华肝脏病杂志,2010,18(3):163-166.
- [22] 李军祥,陈治水,危北海. 非酒精性脂肪性肝病中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.
- [23] 《中国超重/肥胖医学营养治疗专家共识》编写委员会. 中国超重/肥胖医学营养治疗专家共识(2016年版)[J]. 中华糖尿病杂志,2016,8(9):525-540.
- [24] 徐亮,李萍,陆伟,等. FibroScan(R)实施受控衰减参数诊断脂肪肝的价值[J]. 中华肝脏病杂志,2016,24(2):108-113.
- [25] 徐立,符晶,方方,等. 加味茵陈五苓散治疗湿热蕴结型非酒精性脂肪性肝病的疗效及对肠道菌群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(12):127-132.
- [26] 杨林辉,蔡俊,陈东风. 非酒精性脂肪性肝炎患者肠道菌群的变化及意义[J]. 临床肝胆病杂志,2012,28(2):124-126.
- [27] JIANG C, XIE C, LI F, et al. Intestinal farnesoid X receptor signaling promotes nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Clin Invest,2015,125(1):386-402.
- [28] YOUNOSSI Z M, OTGONSUREN M, HENRY L, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009[J]. Hepatology, 2015,62(6):1723-1730.
- [29] SAYINER M, OTGONSUREN M, CABLE R, et al. Variables associated with inpatient and outpatient resource utilization among medicare beneficiaries with nonalcoholic fatty liver disease with or without cirrhosis [J]. J Clin Gastroenterol, 2017, 51 (3) : 254-260.
- [30] European Association for the Study of the Liver (EASL). European Association for the study of diabetes (EASD); European association for the study of Obesity (EASO). EASL-EASDEASO Clinical Practice Guidelines for the management of nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Hepatol,2016,64(6):1388-1402.
- [31] 纪桂元,杨钦河,谢维宁,等. 从痰湿探讨胰岛素抵抗致非酒精性脂肪肝的发病机理[J]. 辽宁中医杂志,2007,34(8):1063-1064.
- [32] 谢维宁,杨钦河,王强. 从肝脾论治脂肪肝[J]. 时珍国医国药,2007,18(2):328-329.
- [33] 乔娜丽,杨钦河,纪桂元,等. 论肝郁脾虚是脂肪肝的基本发病病机[J]. 时珍国医国药,2008,19(5):1238-1239.
- [34] 杨钦河,凌家生,平换换,等. 非酒精性脂肪肝的中医药防治思路与对策[J]. 中医杂志,2007,48(8):746-748.
- [35] 张良登,孙晓红,魏玮,等. 柴胡疏肝散治疗非酒精性脂肪肝的系统评价与Meta分析[J]. 世界中西医结合杂志,2014,9(9):1004-1007.
- [36] LIU F, LU W, QIAN Q, et al. Frequency of TLR 2, 4, and 9 gene polymorphisms in Chinese population and their susceptibility to type 2 diabetes and coronary artery disease [J]. J Biomed Biotechnol, 2012, 2012: doi:10.1155/2012/373945.
- [37] CHOI K C, HWANG J M, BANG S J, et al. Chloroform extract of alfalfa (*Medicago sativa*) inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation by downregulating ERK/NF- $\kappa$ B signaling and cytokine production[J]. J Med Food,2013,16(5):410-420.
- [38] REID D T, MCDONALD B, KHALID T, et al. Unique microbial-derived volatile organic compounds in portal venous circulation in murine non-alcoholic fatty liver disease [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1862 (7) : 1337-1344.
- [39] 易艳容,曾亚,何佳,等. 非酒精性脂肪性肝病患者肠道菌群变化及双歧杆菌三联活菌胶囊对肠道菌群、肝功能、血脂及胰岛素抵抗的影响[J]. 中国肝脏病杂志:电子版,2016,8(3):87-94.

[责任编辑 顾雪竹]