

医学正逐渐突破以往学科间的壁垒,朝着整合及多学科交叉的方向迅猛发展,为以科学分析见长的西方医学和以整体平衡为优的传统中医的会聚,提供了前所未有的宽阔平台。正如世界卫生组织所指出的:传统医学在实现“人人有健康”的目标中发挥着重大作用。中西医学的会聚,既可为促进健康和构建预测、预防和个体化医学的合理模式,加快药物创新和相应管理法规的改革、完善奠定基础,又必将为中、西医学各自的现代化创造条件。

西方医学的先驱巴斯德有一句名言:“机遇属于有准备的头脑”。中法两国医学界的合作源远流长。为了迎接和把握新世纪中西医学会聚的机遇,两国主流学术界在各自政府的支持下,进行了长期的酝酿和准备,终于成就了今天的高层次交流。我们也高兴地看到,两国政府在科技、卫生乃至外交方面的领导人均将出席本次会议并作重要演讲,说明中西医学的汇聚已经成为两国全面战略合作伙伴关系的重要组成部分,其影响将会是深远的。因此,我衷心地期望,引领两国中西医学潮流的决策者和专家们充分利用会议的机会,就如何发挥优势、克服问题、推动中西医学的合作进行充分、深入而又坦诚的研讨,尤其是要围绕共同关切的重大医学科学和政策问题,探讨发掘和提升传统中医中药的价值以形成与西医的优势互补和相互促进的思路、战略和机制,为构建具有 21 世纪时代特征的新医学大厦描绘蓝图。为此,中法双方组织者已经同意在会议研讨成果的基础上,撰写一份战略研究报告,递交两国政府和有关机构。

女士们,先生们,中国的先贤给我们留下的“君子和而不同”以及“医为仁术”的古训,也许可以成为本次大会的指导思想之一。我预祝大会取得圆满成功,为促进全球范围的现代医学和传统医学的会聚提供样板,推动实现联合国的千年发展目标和医学模式由治疗为主向预防为主的转换。祝中法两国医学界的友谊与合作如长江和塞纳河一样,奔流不息,汇入人类文明的共同海洋。谢谢。

中医药抗肝纤维化临床与基础研究进展*

刘成海** 刘平** 胡义扬 徐列明 刘成

(上海中医药大学附属曙光医院 / 上海中医药大学肝病研究所 上海 201203)

摘要:本文首先介绍肝纤维化的现代医学研究进展,包括病理机制与诊断方法等;回顾中医学对肝纤维化的研究过程及其认识,指出我国的肝纤维化临床治疗学研究已经跻身世界前列。继而介绍我国抗肝纤维化新药与经过多中心临床试验的中药制

收稿日期:2007-03-05

修回日期:2007-03-26

* 科技部重点基础研究(973计划)计划项目(2006CB504801),肝硬化“虚损生积”的中医病因学研究,负责人:刘平,国家自然科学基金:(39570889)扶正化瘀方抗肝纤维化作用机制的血清学实验研究,负责人:刘成。(39700192),319方对肝脏胶原代谢关键酶活性及其基因表达的影响,负责人:刘成海,上海市重点学科建设项目(Y0302),负责人:刘平,上海市教育委员会E-研究院建设计划(E-03008),刘平,刘成海部分资助。

** 联系人:刘平,教授,博士生导师,本刊编委,上海中医药大学副校长,主要研究方向:肝硬化、肝癌、脂肪肝等慢性肝脏疾病研究。刘成海,研究员、博士生导师,主要研究方向:肝纤维化的研究;Email: chenghai_liu@yahoo.com.cn

剂,包括扶正化癥方、复方鳖甲软肝片、复方 861 合剂等。接着介绍抗肝纤维化中药 - 扶正化癥方的多途径作用机制与物质基础,如抗肝纤维化作用机制包括抗肝细胞脂质过氧化损伤与肝细胞凋亡、抑制肝星状细胞活化、改善肝窦毛细血管化等,而且针对肝纤维化的不同病理阶段,该方具有各自的药物配伍特点,目前已知该方的主要药效成分包括丹酚酸 B、苦杏仁甙与虫草组分等。最后,展望中医药抗肝纤维化发展前景,一方面加强临床试验,提高临床研究水平,促进其国际化;另一方面,开展中医药治疗肝硬化的临床与基础研究,发展肝硬化的中医病机与治法新理论。

关键词: 肝纤维化 中医学 临床治疗 机制

肝纤维化主要是一种病理学概念,指肝组织内细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分过度增生与异常沉积,导致肝脏结构或(和)功能异常的病理变化,可引起肝功能减退与门静脉高压等。肝纤维化见于肝炎病毒、酒精、药物、血吸虫等原因引起的大多数慢性肝病,是慢性肝病向肝硬化发展的必经病理过程。流行病学资料显示,慢性乙型肝炎发展为肝硬化的估计年发生率为 2.1%~6%,因此,抗肝纤维化是慢性肝病的重要治疗方法。

近 20 余年来,肝纤维化的现代医学研究取得了长足进展。在概念认识上,明确了肝纤维化是机体对慢性肝脏损伤的修复反应,是一种主动性的基质增生过程。在病理机制上,阐明肝纤维化形成的细胞学基础在于肝星状细胞的活化,生化学基础在于 ECM 成分代谢失衡,生成大于降解。近年来,还了解了转化生长因子- β 等细胞因子调控肝星状细胞激活的信号转导分子机制。在诊断方面,基本了解丙型肝炎肝纤维化的自然进展、发生危险因子等,建立组织病理学诊断标准与血清学多指标组合的诊断模式。在治疗学上,证实肝纤维化与一定程度的肝硬化都是可逆的。美国肝病学会曾分别于 1990 年、2000 年、2006 年召开了 3 次肝纤维化专题会议^[1],集中反映了不同时期肝纤维化的研究进展,新近专题会议的特点是将细胞分子生物学基础研究与新兴的抗肝纤维化临床试验设计结合起来,并报告了瞬时弹性超声 - Fibroscan 在临床非创伤性诊断的成功运用^[2]、PPAR- γ 激动剂 - GSK262570 抗肝纤维化 I 期 (b) 临床试验等^[1],标志着肝纤维化的现代医学研究开始从实验室走向临床的重大转变,并进入“整体创伤愈合反应”的新时代。

肝纤维化的治疗是患者与医师关注的重点,1990

年 Brenner 等曾提出抗肝纤维化理想药物“三原则”^[3]即专一性作用于肝脏;特异性调节胶原等细胞外基质成分代谢和无明显毒性。但迄今临床上仍缺乏符合这些原则的抗肝纤维化生物或化学药物。而基于辨证论治的理论指导的中医学在长期的实践中对肝纤维化有独特的认识,中药能够发挥多组分与多途径的综合作用特点,并取得较好的临床疗效,近年来,中医药在抗肝纤维化的临床疗效评价,作用机制与物质基础研究等方面取得长足进步,出现了扶正化癥胶囊(片)、鳖甲软肝片等抗肝纤维化中药新药,初步建立中西医结合抗肝纤维化诊疗指南^[4],显示了中医药抗肝纤维化的治疗学优势,可以认为,我国的肝纤维化临床治疗学研究已走在世界前列,进一步融入国际肝纤维化研究领域乃是今后的重要议题。

一、中医学对肝纤维化的认识及其抗肝纤维化研究过程

中医学并无肝纤维化概念,对肝纤维化的认识往往与其病变结果 - 肝硬化相联系,参照“胁痛”、“癥积”等中医病症以认识其因机证治;并在抗肝纤维化临床治疗中,基于“方 - 证 - 效”相关联的原则,根据临床证候特征,紧密结合治法方药的临床疗效,不断认识其病机特点。因此,中医学对肝纤维化的认识主要基于临床实践,并不断发展变化。

1. 中医药抗肝纤维化研究的主要阶段

(1) 20 世纪 70 年代以前为临床探索时期。根据肝纤维化疾病包括慢性肝炎与肝硬化的临床表现,分析病机特点,辨证论治,以一方为主加减治疗。如王玉润认为肝硬化的主要病位在肝,病机本质是“肝络阻塞,血瘀气滞”,治疗上以活血化瘀、行气通络为基本

大法,擅长用“桃红饮”为主结合辨证施治^[5]。姜春华认为“瘀血郁肝是病原,气虚脾弱是病体”,擅长用“下瘀血汤”化裁^[5]。关幼波则认为气虚血滞是早期肝硬化之本,湿热毒邪稽留血分是标,多用益气健脾、益肾柔肝与活血通络之品等^[6]。

(2) 20世纪70~90年代实验研究时期,这一阶段较多开展中药抗肝纤维化作用的实验验证,代表性研究包括强肝软坚汤、丹参、桃仁及其提取物、葫芦素B、齐墩果酸、甘草甜素等。

(3) 20世纪90年代至今为较规范化临床治疗试验与作用机制研究时期。即在中药新药研究原则与循证医学原理的指导下,采用多中心、随机对照、肝组织病理活检方法观察中药的抗肝纤维化作用,以及采用现代生命科学方法研究有效中药的作用机制与配伍原理,如复方861合剂^[7]、扶正化瘀方^[8]、复方鳖甲软肝片^[9]等。2001年9月,在上海召开的全国首次中西医结合防治肝纤维化专题会议,回顾总结了我国中西医结合肝纤维化的研究成果,在此基础上中国中西医结合学会肝病专业委员会于2006年形成第一个中西医结合肝纤维化诊疗指南。

2 肝纤维化的中医证候病机特点

虽然肝纤维化的病因各异,但肝纤维化病理结局相同,并存在着共同的病机特点;肝纤维化作为一个病理过程,有其自身的发生发展规律,这些反映在中医学的证候病机上应存在着基本病机与基本证型。据我们统计分析近年来中药治疗肝硬化资料较为完整的论文38篇、共计3800余病例的临床报道资料,发现气滞血瘀与气虚血瘀为主要证型,分别占27%与23%。张琴等调查900例肝炎后肝硬化的证候信息,发现本病的基本证候病机为正虚血瘀^[10]。考察近年来抗肝纤维化报道较多的中药复方制剂^[11],如扶正化瘀方、强肝软坚汤、复方鳖甲软肝片、强肝胶囊、复方861合剂、益肝康、补肾方等,可以发现,这些方剂除了均有丹参等活血化瘀外,同时有黄芪、党参等益气健脾,或地黄、虫草等养阴补肾的中药。这些方药组成的共同特点也提示肝纤维化的基本证候病机为正虚血瘀,而正虚主要表现为气阴两虚,血瘀则主要表现为瘀血阻络,其基本证型为气阴虚损、瘀血阻络。当然在肝纤维化病变的不同阶段、不同患者,可见有不同的证候表现,一般常

见的如肝胆湿热、肝郁脾虚、肝肾阴虚等。

二、中医药抗肝纤维化的临床研究进展

1. 扶正化瘀法与扶正化瘀方

上海中医药大学肝病研究所的扶正化瘀法抗肝纤维化研究起源于20世纪70年代晚期的血吸虫病防治。早期的中医药治疗多数以针对晚期血吸虫病腹水论治,虽有一定作用,但整体效果并不理想^[12]。此前的20世纪50年代末已有丹参治疗血吸虫病脾肿大有效的报道^[13];20世纪70年代后期,王玉润从病证结合、临床辨证分型施治入手,将晚期血吸虫病患者分为单纯血瘀气滞型、血瘀气滞偏阳虚型与血瘀气滞偏阴虚型,以活血化瘀方“桃红饮”为基础,加减治疗血吸虫病肝纤维化,结果患者肝功能和微循环得到改善^[14],进一步发现桃仁及其提取物对血吸虫病家兔与患者的肝纤维化有较好作用^[15]。

上述的活血化瘀中药及其桃仁提取物治疗肝纤维化的临床疗效证实了血吸虫病肝纤维化“血瘀阻络”基本证候病机假说,但临床观察发现,桃仁提取物治疗后患者常见的“疲乏”等主要症状并未改善,而临床表征信息恰恰又是中医辨证及临床疗效判断的重要依据。从临床实践问题出发,结合中医学关于“虚、瘀”的理论,我们提出“血瘀阻络为基本病理因素,而正气亏虚是内在条件”的肝纤维化中医证候病机认识。我们结合前人的经验,在以往研究的基础上,提出虫草菌丝合桃仁提取物扶正化瘀抗肝纤维化治疗的设想。通过家兔血吸虫病肝纤维化模型,初步证实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^[16]。进而采用随机双盲、安慰剂对照的方法,试验组静滴桃仁提取物配合口服虫草菌丝,对照组给与安慰剂,结果显示试验组显著缩小肿大的肝脾体积及扩张的门静脉管径,提高血清白蛋白含量,减轻腹腔镜下肝大体外观纤维化程度,增加肝组织胶原酶活性及尿羟脯氨酸排泄量^[17],而对照组无显著改变。进而将此方法治疗肝炎后肝硬化,获得相似结果,并且部分患者于治疗前后肝组织活检发现肝窦毛细血管化明显改善^[18]。初步验证了正虚血瘀为肝纤维化基本证候病机的认识,为扶正化瘀法抗肝纤维化治疗的深入研究奠定了基础。

基于以上研究成果,针对慢性乙型肝炎、肝炎后肝硬化正气(肝、脾、肾)虚损、血瘀阻络、湿热内留这一中医基本证候病机的特点,我们以虫草菌丝、丹参、桃仁、松黄及绞股兰等组成扶正化瘀复方。我们首先在临床进行该方(胶囊制剂)治疗肝炎后肝硬化的对照观察^[19],发现该方可改善患者肝功能、调整异常免疫功能与降低血清肝纤维化标志物水平等,有良好的综合疗效。而后我们采用多中心、随机、双盲、药物(和络舒肝胶囊)平行对照的方法,在3个中心开展了共计216例受试者的6个月治疗I期临床试验,以肝组织学病理为主,结合血清肝纤维化学指标与肝功能等综合评价扶正化瘀方的抗肝纤维化疗效与安全性^[8]。全部病例均作肝活检组织学诊断,其中93例治疗前后2次肝活检,扶正化瘀方组50例,对照组43例。结果表明:治疗前两组肝纤维化程度基本相似,扶正化瘀方治疗后纤维化程度明显下降,逆转率达52%,改善幅度也显著优于对照组,且肝组织炎症活动度也有明显改善。以肝纤维化血清学指标(HA、LM、P-III-P、IV-C)综合分析,扶正化瘀方组有效率为74.5%,对照组为29.3%。两组治疗后血清肝功能均有明显改善,但第24周扶正化瘀方组GGT与白蛋白改善程度优于对照组。药物安全,无明显不良反应。其后,该药物进一步扩大样本II期临床试验,验证了其抗肝纤维化的良好效果。2002年扶正化瘀胶囊(片剂)获得国家FDA批准,目前该药获得美国FDA关于抗丙型肝炎肝纤维化的I期临床试验的许可(ND号:76595),将进一步在海外进行多中心临床研究。

2 复方鳖甲软肝片

由鳖甲、冬虫夏草、黄芪、党参、三七等11种中药组成,具有益气养血、化瘀解毒功效,为抗肝纤维化中药新药。报道临床观察服用鳖甲软肝丸的慢性乙型肝炎肝纤维化的患者的临床疗效^[20],共98例,分为治疗组(61例)及对照组(37例),分别给予鳖甲软肝丸及西药保肝对症治疗,结果治疗组对肝炎后肝纤维化的临床症状体征积分、肝功能指标、血清肝纤维化标志物具有明显的改善作用。而后,研究者观察复方鳖甲软肝片对慢乙肝肝纤维化的组织病理及肝星状细胞凋亡作用^[9],慢性乙型肝炎患者在治疗6个月的治疗前、后行肝穿组织活检,采用Ishak评分系统进行组织学疗

效评价,应用TUNEL和 α -SMA免疫组织化学染色法双标记显示肝组织内活化肝星状细胞(HSC)的凋亡研究^[2]。结果治疗组肝组织炎症活动度和肝纤维化程度均有明显改善,活化HSC数量明显减少,而凋亡的活化HSC数量则显著增加。证实复方鳖甲软肝片有抗肝纤维化与改善肝组织炎症作用,且作用机制与抑制HSC活化、促进活化HSC凋亡有关。

3 复方861合剂

北京友谊医院研制的复方861合剂,由丹参、黄芪、陈皮、香附、鸡血藤等10味中药组成,重在益气活血、健脾舒肝。1996年左右以复方861颗粒冲剂治疗慢性乙型肝炎伴肝纤维化患者,服药半年以上的49例患者治疗后症状改善率67%,血清P-III-P及LM含量较治疗前显著下降,ALT活性的复常率达73%,33%的患者门静脉管径缩小,脾肿大的回缩率为52%。服药6个月的12例患者治疗前后2次肝活检的结果表明,该复方能明显减轻肝纤维化的程度,与其肝组织炎症改善同步^[21]。而后,多中心观察对慢性乙型肝炎与早期肝硬化患者肝纤维化的作用^[7],治疗组52例,安慰剂组50例,全部完成治疗前后肝穿刺。治疗组患者血清肝功能(ALT、AST等)、TMP-1明显改善,与安慰剂组差异显著。治疗组血清肝纤维化标志物(HA、P-III-P、C-IV、LN)水平均较治疗前有所下降,但与安慰剂组相比,差异无显著性。而治疗组治疗前后肝组织炎症与纤维化计分明显下降,S2期逆转率为38.9%,S3期为53.3%,S4期为78.6%,总逆转率52%;安慰剂组分别为4.3%、25%、41.7%、20%,两组差异有显著性,未见明显不良反应。证实研究,复方861治疗慢性乙型肝炎肝纤维化、早期肝硬化是可逆的。经体内外实验研究表明^[22],该方的作用机制在于抑制肝星状细胞增殖活化及其胶原基因表达等。

4 强肝软坚汤

山西医学院研制的强肝软坚汤由当归、白芍、丹参、郁金、败酱草、栀子、丹皮、生地、白术、茯苓、鳖甲、黄芪、山楂、茵陈等中药组成,方中黄芪健脾益气,当归、白芍滋养肝血,丹参活血祛瘀兼能养血生新;郁金行气解郁,活血破瘀,败酱草、茵陈、栀子清热解毒,鳖甲软坚散结,诸药合用,益气养血,行气化瘀、软坚散结,疏肝健脾。韩经寰等曾用该方治疗105例失代偿

期肝硬化病人^[23],根据肝硬化的早、中、晚期,辨病与辨证相结合,将患者分为6型,以清热利湿、养血益气、活血化瘀为基本治法,在强肝软坚汤基本方基础上,演化成相应的6个方(强肝软坚汤1~6号),取得较好的临床疗效。

5. 其它治疗肝纤维化的中药

其它中药复方制剂^[24,25],如强肝胶囊、疏肝理脾片、柔肝冲剂、丹芍冲剂等,经典方如大黄蟪虫丸、鳖甲煎丸与小柴胡汤等,均报道采用不同方法的临床观察与动物实验,有不同程度抗肝纤维化作用。而在单味药物方面^[26],临床报道较多的包括黄芪、当归、丹参、虫草、三七、柴胡,有效成分方面报道较多有丹酚酸与丹参酮、氧化苦参碱、甘草甜素、三七总甙、桃仁提取物与汉防己甲素等。其中多数也为活血化瘀药与补益药,及其有效部位或成分。

三、中药扶正化癥方抗肝纤维化作用机制研究

中药具有多种成分,其作用往往具有多个途径、多个靶点的特点,这也是其对肝纤维化复杂病理具有较好综合疗效优势的重要原因。近年来,围绕肝纤维化的主要病理途径,中医药抗肝纤维化的生化细胞药理机制研究以及相关复方的配伍原理与物质基础研究取得了很大进展,促进了对中医药抗肝纤维化的理论认识。仅以扶正化癥方为例讨论中医药抗肝纤维化的基础研究进展,由于中药成分复杂、提取制备与吸收代谢等特点,粗提物直接添加有较多影响,我们首先建立了中药复方抗肝纤维化血清药理学方法,并应用于其药理研究^[27]。

1. 抗肝细胞脂质过氧化与肝细胞凋亡损伤

肝细胞损伤是肝纤维化发生的病理启动因素,其一,肝细胞自由基损伤导致细胞膜脂质过氧化,相关产物如丙二醛(MDA)与4-壬烯等可直接刺激肝星状细胞活化,通过促进肝库普弗细胞激活,释放转化生长因子(TGF- β)等细胞因子间接引起肝纤维化。其二,肝细胞凋亡所致的凋亡小体可直接或通过诱发肝库普弗细胞活化,激活肝星状细胞。因此,防止肝细胞损伤是抗肝纤维化的重要环节。

CCl₄可导致明显的肝脏脂质过氧化损伤与肝纤维化,对于CCl₄诱导的肝纤维化大鼠,扶正化癥方明

显减轻肝细胞变性坏死和促进肝功能恢复;显著提高肝组织超氧化物歧化酶(SOD)活性,降低MDA含量;且这些作用与降低肝组织羟脯氨酸含量,即抗肝纤维化作用呈相同趋势^[28]。由于二甲基亚硝胺(DMN)化学中毒可通过脂质过氧化途径导致肝纤维化^[29],扶正化癥方对该模型也有良好的抗肝脏脂质过氧化与肝纤维化作用。此外,体外分离培养正常大鼠肝细胞,经CCl₄刺激损伤,同时以扶正化癥方药物血清温育细胞,结果该含药血清明显促进体外损伤肝细胞的功能恢复。这些结果都表明,扶正化癥方有良好的抗肝细胞脂质过氧化损伤作用,并通过该作用防止肝纤维化的发生。

我们近期采用脂多糖诱导的肝细胞凋亡小鼠模型,发现扶正化癥方可明显抑制肝细胞的凋亡,而且其作用机制与调节凋亡抗凋亡因子、抑制半胱氨酸活性等有关。提示抗肝细胞凋亡是扶正化癥方抗肝纤维化的重要作用机制之一。

2 抑制肝星状细胞活化作用

肝星状细胞活化是肝纤维化的中心环节,其活化途径包括肝细胞脂质过氧化损伤、胞外基质改变与肝库普弗细胞分泌细胞因子的旁分泌刺激,以及星状细胞活化后分泌细胞因子的自分泌作用,其中细胞因子以TGF- β 与血小板衍生生长因子(PDGF)的作用尤为显著。

(1)抑制肝星状细胞增殖与胶原生成。扶正化癥方不仅抑制DMN纤维化肝脏的 α -SMA表达,其药物血清也明显抑制正常传代活化、体外PDGF-bb刺激活化与肝纤维化大鼠体内活化的肝星状细胞增殖^[27]。研究还发现5%~20%药物血清能浓度依赖性抑制传代活化大鼠HSC细胞内外胶原生成率,尤其以抑制细胞外胶原分泌率最为显著;抑制其I型胶原的分泌量及其I型前胶原mRNA表达^[30]。

(2)抑制库普弗细胞的旁分泌。以CCl₄诱导急性肝损伤大鼠模型,而后分离培养体内激活的库普弗细胞,继以扶正化癥方药物血清温育,结果发现药物血清抑制库普弗细胞培养上清中TGF- β 与PDGF的活性,而且该库普弗细胞培养上清经药物血清作用后,对静止星状细胞的促增殖作用明显减弱^[31]。说明扶正化癥方可通过抑制库普弗细胞的激活及其旁分泌作

用,而抑制星状细胞的活化,从而发挥抗肝纤维化作用。

(3)抑制 FN 整合素信号途径。在肝损伤早期, FN 表达增加,并通过整合素途径刺激 HSC 活化,观察发现扶正化癥方不仅抑制纤维化肝脏的 FN 及其整合素 1 的表达^[32],其药物血清也抑制 FN 刺激的 HSC 活化、整合素 5 1 的表达与 ERK1/2 磷酸化。

(4)抑制活化肝星状细胞的自分泌。免疫细胞化学染色图像分析半定量发现,扶正化癥方药物血清明显抑制活化星状细胞 TGF- β 1 表达^[30]。活化星状细胞的条件培养液可显著促进静止星状细胞的增殖与 I 型胶原分泌,但经药物血清温育条件培养液后,静止星状细胞的促细胞增殖与胶原生成作用则明显减弱。表明扶正化癥方抑制活化星状细胞的功能,并通过抑制其自分泌作用,阻断活化的级联反应,从而阻止肝纤维化的持续发展。

3. 逆转肝窦毛细血管瘤

正常肝窦基底膜不连续,内皮间有窗孔,以保证肝细胞内外的快速物质交换与肝脏微循环畅通。肝损伤时肝窦内 HSC 活化、内皮细胞损伤与失窗孔化等,导致胶原等胞外基质在肝窦狄氏间隙大量沉积,促使肝窦真性毛细血管瘤,导致肝细胞功能障碍、肝内微循环与门脉压力升高。因此,肝窦毛细血管瘤既是肝纤维化形成的早期病理变化,又是肝硬化与门脉高压的病理基础。通过复制肝窦毛细血管瘤大鼠模型,发现大鼠成模后肝脏间质性基质金属蛋白酶 - MMP13 的蛋白表达与活性明显下降,而纤溶酶原激活剂的抑制物 - PAI-1 表达增加,酶活性抑制物 - TIMP1 表达上升;门脉压力升高,肝窦内皮失窗孔与基底膜连续化。扶正化癥方明显减少 PAI-1 与 TIMP1/2 蛋白表达,促进 MMP13 活性水平;减轻血清 HA 水平与内皮细胞损伤,改善肝窦毛细血管瘤,降低门脉压力^[33]。

4. 扶正化癥方抗肝纤维化的配伍特点与主要药效物质基础

根据中医治法理论,我们首先将扶正化癥方按治法功效拆分为扶正组与化癥组^[34],以 DMN 肝纤维化模型治疗用药,结果提示以虫草为主的扶正药减轻纤维化肝脏的胶原生成与沉积作用最强;将拆方制备为药物血清,作用于培养的肝星状细胞,同样是扶正组药

物血清抑制肝星状细胞 I 型胶原基因表达及其蛋白分泌的作用最强,而化癥药抑制细胞增殖作用显著。继之,采用正交试验表,观察扶正化癥方各药物对已成型 DMN 模型大鼠肝纤维化的逆转作用,结果虫草、绞股兰在降低羟脯氨酸含量与改善胶原沉积方面作用突出,而丹参、虫草在改善肝功能 (ALT) 方面效果明显,说明以虫草为主的扶正药物在促进肝纤维化恢复逆转中起主要作用。

而采用以脂质过氧化为特点的 CCl₄ 大鼠肝纤维化模型,同上正交设计、预防给药^[35],结果显示扶正化癥方中的桃仁显著降低肝组织羟脯氨酸含量,提高肝组织间质性胶原酶活性;丹参显著提高血清白蛋白含量与降低 T Bil 水平;虫草菌丝与绞股兰降低血清 ALT 活性明显,以上 4 种药物有良好的协同作用,说明以桃仁、丹参为主的化癥药在扶正化癥方预防肝纤维化的发生发展中起主要作用。以上结果说明,一方面扶正化癥方作为整体具有综合优势,而组成该复方的不同药物与配伍,在各个环节具有不同作用特点;另一方面说明在肝纤维化的不同病理阶段,复方中药抗肝纤维化的主要药效药物并不一致,并且提示我们在肝纤维化早期或预防治疗时,治法上宜重视活血化癥,而在肝纤维化晚期如肝硬化或逆转治疗时,宜重视扶正补虚。

近年来围绕以上扶正化癥方的 4 味主要中药开展研究工作,我们初步发现该方剂的几种抗肝纤维化成分,包括桃仁中的苦杏仁甙、丹参中丹酚酸 B 与虫草菌丝中的虫草组分等。苦杏仁甙可显著抑制肝星状细胞的增殖与胶原生成,与虫草菌丝合用可显著改善血吸虫患者的肝纤维化病理,苦杏仁甙单用对肝纤维化模型大鼠也有良好的改善作用^[36]。其中丹酚酸 B 可显著改善慢性乙型肝炎肝纤维化患者的肝纤维化^[37],目前,我们已经完成 I 期临床试验,该成分的作用机制研究亦较多,可抗肝细胞过氧化损伤、抑制肝星状细胞活化,尤其是近年发现该成分可调节肝星状细胞内 TGF- β 1/Smads 的信号转导,深入到分子药理学^[38]。

四、展 望

近 20 多年来的中医药抗肝纤维化实践表明,以活

血化瘀为主的抗肝纤维化治疗学研究取得较大成绩,展示出良好的发展前景,成为彰显中医药理论优势的例证。值得注意的是新近美国肝病学会第3次肝纤维化会议提出了“联合”的新口号,不仅可诊断标志物、治疗方法与终点指标三者联合,治法上也可借鉴HM的“鸡尾酒疗法”综合方法,中药尤其是中药复方具有这种综合优势。因此,通过进一步加强RCT多中心临床试验,尤其是国际合作临床试验,建立具有中医学特点的终点疗效评价体系,将促进中医药抗肝纤维化治疗与研究的国际化。此外,进一步多学科合作,采用蛋白质组、代谢组学、植物化学等现代生命科学理论技术,多层次、多途径探讨中医药抗肝纤维化的复杂作用机制及其物质基础,将不仅阐明其作用原理,对于抗肝纤维化中药二次研发,提高药物质量标准与临床疗效等均有重要意义。

当前肝硬化的治疗仍是一世界性难题,肝组织弥漫性纤维结缔组织沉积是肝纤维化、肝硬化共有的病理改变,而伴有结节形成(假小叶)的组织结构改建是肝硬化特征性病变,肝纤维化与肝硬化在病理学上既有联系又有区别。近年来,国际上对肝硬化的病原学治疗如抗乙肝病毒治疗取得了一定的成效,但是对肝硬化能否逆转尚缺乏有力的科学证据。中医药可以在解决这一难题中发挥理论与实践的优势,深化肝硬化的中医病因病机学研究已成为提高肝硬化临床疗效亟待解决的重要问题。临床疗效是评价中医理论科学性的唯一标准,我们认为应按照循证医学要求,抓住“临床疗效”这一关键问题,紧紧围绕“血瘀为积之体、虚损为积之根”的“虚损生积”这一理论假说,突出补益虚损及其与化瘀配伍的作用研究,进行周密的课题设计,获取“补益虚损”促进“形质亏损”修复、提高肝硬化临床疗效、逆转早期肝硬化的科学数据,阐明中医药促进硬化肝组织结构修复的作用基础,将有助于建立肝硬化新的中医病因病机学说,并为解决世界性医学难题做出贡献。

参考文献

- Friedman SL, Rockey DC, Bissell DM. Hepatic fibrosis 2006: Report of the third SSALD single topic conference. *Hepatology*, 2007, 45(1): 242~249.
- Foucher J, Chanteloup E, Vergnol J, et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (Fibroscan): a prospective study. *Gut*, 2006, 55: 403~408.
- Brenner DA, Aikom JM. Therapy for hepatic fibrosis. *Semin Liver Dis*, 1990, 10(1): 75~83.
- 中国中西医结合学会肝病专业委员会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南. *中国中西医结合杂志*, 2006, 26(11): 1052~1056.
- 单书健, 陈子华. 古今名医临证金鉴-黄疸鼓胀卷(下). 北京, 中国中医药出版社, 1999: 265~405.
- 北京中医医院编. 关幼波临床经验选. 北京, 人民卫生出版社, 2006: 130~141.
- 尹珊珊, 王宝恩, 王泰龄, 等. 复方861治疗慢性乙型肝炎肝纤维化与早期肝硬化的临床研究. *中华肝脏病杂志*, 2004, 12(8): 467~470.
- Liu P, Hu YY, Liu C, et al. Multicentre clinical study on Fuzhenghuayu capsule against liver fibrosis due to chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(9): 2892~2899.
- 周光德, 李文淑, 赵景民, 等. 复方鳖甲软肝片抗肝纤维化机制的临床病理研究. *解放军医学杂志*, 2004, 29(7): 563~564.
- 张琴, 刘平, 章浩伟, 等. 900例肝炎后肝硬化中医证候判别模式的研究. *中国中西医结合杂志*, 2006, 26(8): 694~697.
- 刘成海. 肝纤维化的基础研究进展. *中国中西医结合杂志*, 2006, 26(1): 11~12.
- 王玉润. 中医药治疗晚期血吸虫病肝硬化的回顾和展望. *上海中医药杂志*, 1985, 22(6): 7~10.
- 吴益生, 杨成华, 江健辅, 等. 丹参治疗血吸虫病肝硬化及脾肿大初步报告. *中华医学杂志*, 1958, (6): 542~545.
- 王玉润, 阮望春, 朱再荪, 等. 61例晚期血吸虫病辨证分型治疗的临床探讨. *上海中医药杂志*, 1981, 26(6): 8~10.
- 俞广声, 唐民圭, 阮望春, 等. 桃仁治疗血吸虫病性肝硬变的研究. *中医杂志*, 1986, 27(6): 24~25.
- 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 - . 对血吸虫病肝纤维化胶原代谢的影响. *上海中医药大学上海市中医药研究院学报*, 1988, 2(1): 22~29.
- 王玉润, 阮望春, 洪嘉禾, 等. 桃仁提取物合人工虫草菌丝抗肝纤维化的研究 - . 42例血吸虫病肝纤维化的临床观察. *上海中医药大学上海市中医药研究院学报*, 1987, 1: 22~25.
- 徐列明, 刘平, 刘成. 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(12): 737~739.
- 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.
- 吴秀美, 曾常春. 鳖甲软肝丸治疗慢性乙型肝炎肝纤维化患者的临床观察. *中药新药与临床药理*, 2003, 14(3): 203~205.
- 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.
- 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.
- 刘成海, 刘平. 强肝软坚汤. 见 刘平主编: 现代中医肝病学,

- 北京, 人民卫生出版社, 2002 134 ~ 135.
- 24 杨柳明, 徐克成, 赵延龙, 等. 强肝胶囊治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的临床病理研究. 胃肠病学和肝病杂志. 2001, 10(3) 247 ~ 249.
- 25 刘伟仕, 谌宁生, 孙克伟. 疏肝理脾抗慢活乙肝肝纤维化的临床研究. 实用中医内科杂志, 1998, 12(1) 7 ~ 9.
- 26 胡义扬. 肝纤维化的中医药治疗及其特点. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(1) 10 ~ 11.
- 27 刘成海, 刘平, 刘成, 等. 抗肝纤维化有效中药复方血清药理学方法探讨. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(2) 16 ~ 19.
- 28 胡义扬, 刘成, 刘平, 等. 扶正化瘀 319方对二甲基亚硝胺所致大鼠肝纤维化及其白蛋白基因表达的影响. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(特集) 169 ~ 171.
- 29 刘成海, 陈文慧, 刘平, 等. 二甲基亚硝胺致大鼠脂质过氧化变化与药物干预作用. 中华肝病杂志, 2001, 9(suppl) 18 ~ 20.
- 30 刘成海, 王晓玲, 刘平, 等. 扶正化瘀方药物血清对肝星状细胞 I 型胶原及转化生长因子 α_1 表达的影响. 中国中西医结合杂志, 1999; 19(7) 412 ~ 414.
- 31 刘成, 姜春萌, 刘平. 扶正化瘀方对大鼠肝星状细胞旁分泌活化途径的抑制作用. 中华消化杂志, 2001, 21(6) 367 ~ 369.
- 32 宣红萍, 孙保木, 陶艳艳, 等. 肝纤维化过程中整合素 $\alpha_5\beta_1$ 动态变化与扶正化瘀方干预作用. 肝脏, 2004, 9(9) 163 ~ 166.
- 33 陆雄, 刘平, 刘成海, 等. 扶正化瘀方促进二甲基亚硝胺肝纤维化大鼠肝窦毛细血管化逆转的实验研究. 中医杂志, 2003, 44(2) 136 ~ 139.
- 34 刘成海, 王晓玲, 王臻楠. 扶正化瘀方影响肝脏胶原生成的拆方配伍研究. 中医杂志, 2000, 41(10) 620 ~ 622.
- 35 刘平, 吴定中, 刘成海, 等. 扶正化瘀中药复方促进 CC4 大鼠肝纤维化逆转的配伍机理研究. 上海中医药大学学报, 2002, 16(1) 37 ~ 41.
- 36 徐列明, 刘平, 刘成, 等. 桃仁提取物抗实验性肝纤维化的作用观察. 中药药理与临床, 1993, 9(5) 14 ~ 16.
- 37 Ping Liu, Yi - Yang Hu, Cheng Liu, et al. Clinical observation of salvanolic acid B in treatment of liver fibroses in chronic hepatitis B. World J Gastroenterol, 2002, 8(4) 679 ~ 685.
- 38 刘成海, 刘平, 胡义扬, 等. 丹酚酸 B 盐对转化生长因子 β_1 刺激肝星状细胞活化与胞内信号转导的影响. 中华医学杂志, 2002, 82(18) 1267 ~ 1272.

Progress of clinical and basic research on Liver Fibrosis with Traditional Chinese Medicine

Liu Chenghai, Liu Ping, Hu Yiyang, Xu Lianing, Liu Cheng

(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shuguang Hospital, Institute of Liver Diseases, Shanghai, 201203)

The article at first introduces the progresses of liver fibrosis with modern medicine, including pathogenesis and diagnosis etc., and retrospect the TCM research history and understanding about liver fibrosis, point out that TCM has the advantages against liver fibrosis. Chinese clinical investigation on liver fibrosis has now stay at world advanced level. Then the new TCM drugs or recipes with multicentre clinic trial were reviewed, such as Fuzheng Huayu capsule, 861 recipe and Bei jia Ruangan tablet etc. For the mechanism of herbal medicine action against liver fibrosis, multiple actions of Fuzheng Huayu capsule were introduced, including protection of hepatocytes peroxidation and apoptosis, inhibition of hepatic stellate cells and improvement of hepatic sinusoidal capillarization etc. Also the recipes showed the different herbal combinational actions depending on the pathological process, and there has now known that salvanolic acid B, and were the effective chemical component. At last prospective, we believe that the clinic investigation should be improved and internationalized of TCM antifibrotic research as clinical trial has been much more strengthened, and the basic and clinical probing on cirrhosis with TCM should be carried out now, and new TCM theory about cirrhotic mechanism and therapeutic strategy will be developed.

Keywords: liver fibrosis; traditional Chinese medicine; clinic therapy; mechanism

(责任编辑:王 瑀, 责任编辑:张志华)