

复方苦参注射液治疗丙型肝炎肝硬化的临床疗效及其机制研究

陈秀清

西宁市第一人民医院 中医科, 青海 西宁 810000

摘要: **目的** 探讨复方苦参注射液对丙型肝炎肝硬化患者的临床疗效及其机制。 **方法** 将 56 例丙型肝炎肝硬化患者随机分为治疗组和对照组, 每组 28 例, 对照组根据病情采用一般保肝护肝处理, 如使用维生素 C、门冬氨酸钾镁等, 治疗组在对照组治疗基础上加用复方苦参注射液静脉滴注, 600 mg/次, 1 次/d。两组 3 个月为 1 个疗程, 连续治疗 2 个疗程后评价疗效、肝纤维化 4 项指标和外周单核细胞分泌细胞因子变化情况, 并对 IL-10 进行 mRNA 检测。 **结果** 治疗后治疗组 ALT 复常率 34.56%, HCV RNA 阴转率 9.34%, 与对照组 (21.54%、6.53%) 相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$ 、 0.05)。两组治疗后血清中透明质酸 (HA) 水平均低于治疗前, 治疗前后差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 治疗后两组差异无统计学意义; PC-III、IV-C 治疗前后差异均无统计学意义; 治疗后两组层黏连蛋白 (LN) 均低于治疗前, 治疗前后差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 治疗后, 治疗组 LN 下降程度更为明显, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。治疗后, 治疗组 IL-10 mRNA 水平上升, 与治疗前相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 治疗后治疗组 IL-10 mRNA 显著高于对照组, 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对照组治疗前后 IL-10 mRNA 差异无统计学意义。 **结论** 在常规治疗基础上加用复方苦参注射液对丙型肝炎肝硬化患者有较好的临床疗效, 其机制可能是通过影响外周单核细胞 IL-10 表达, 调节机体促炎/抗炎平衡实现的。

关键词: 复方苦参注射液; 丙型肝炎; 肝硬化; IL-10; 细胞因子

中图分类号: R978.7 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)05-0527-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.05.019

Clinical efficacy of Compound Matrine Injection in treatment of hepatitis C cirrhosis and its mechanism

CHEN Xiu-qing

Department of Traditional Chinese Medicine, The First People's Hospital of Xining, Xining 810000, China

Abstract: Objective To explore the clinical efficacy of Compound Matrine Injection in patients with hepatitis C cirrhosis and mechanism. **Methods** Patients with hepatitis C cirrhosis (56 cases) were randomly divided into treatment group and control group, 28 cases in each group. The control group used general protecting liver according to the condition of disease, such as vitamin C, potassium aspartate magnesium, and the treatment group added Compound Matrine Injection, id, 600 mg/d. One treatment course was for 3 months, then the efficacy, liver fibrosis, peripheral mononuclear cells secreting cytokines, and mRNA of IL-10 were evaluated after continuous treatment for two courses. **Results** The recovery rate of ALT in the treatment group was 34.56%, and negative rate of HCV RNA was 9.34%, and those of the control group were 21.54% and 6.53%. There was statistically significant difference between two groups ($P < 0.01$, 0.05). The levels of HA of the two groups after treatment were lower than those before treatment. The difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.01$), but there was no statistically significant difference after treatment. PC-III and IV-C had no significant difference before and after treatment; The LN levels in the two groups after treatment were obviously lower than those before treatment, and the differences were statistically significant ($P < 0.01$). The LN level of the treatment group decreased more significantly after treatment. Compared to the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). IL-10 mRNA levels of the treatment group after treatment raised. Compared with that before treatment, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). IL-10 mRNA of treatment group after treatment was significantly higher than that in control group, and there was significant difference between two groups ($P < 0.05$). IL-10 mRNA of the control group had no significant difference before and after treatment. **Conclusion** There is a better clinical effect of Compound Matrine Injection within the basis of conventional

收稿日期: 2014-03-26

作者简介: 陈秀清, 女, 副主任医师, 中医科副主任, 主要从事中西医肝胆和中西医肿瘤专业, 对各类病毒性肝炎, 脂肪肝, 胆囊炎及慢性萎缩性胃炎, 肝炎肝硬化及肝硬化的各种并发症的中西医结合治疗积累了丰富的临床经验。

therapy on patients with hepatitis C cirrhosis, and its mechanism may be related to the influence of peripheral mononuclear cell IL-10 and regulating the body's inflammatory balanced realization.

Key word: Compound Matrine Injection; hepatitis C; cirrhosis; IL-10; cytokine

目前全世界约有 1.7 亿丙型肝炎病毒 (HCV) 感染者, 本病隐匿性较高, 临床常出现漏诊。有文献报道, 约有 70% 急性丙型肝炎患者可转为慢性, 10% 左右的慢性患者又可发展为肝硬化甚至肝癌^[1]。对丙型肝炎的治疗, 临床推荐以聚乙二醇干扰素、利巴韦林联合治疗为主, 但对发展至肝硬化或后期失代偿患者, 干扰素治疗并不合适。已有研究证明^[2], 丙型肝炎肝硬化的发生发展与细胞因子网络失衡有关, 而外周单核细胞分泌的白细胞介素-10 (IL-10) 是免疫平衡的重要调节因子。西宁市第一人民医院用复方苦参注射液对丙型肝炎肝硬化患者进行治疗, 探讨其治疗效果及对肝纤维化指标和血清细胞因子影响。

1 资料和方法

1.1 一般资料

本研究经医院伦理委员会审核, 符合人体试验伦理学标准, 并向参与者说明利弊, 患者自愿参与, 并签署知情同意书。所有观察对象均来自西宁市第一人民医院中医科 2011 年 2 月—2013 年 9 月收治的门诊患者, 共 56 例, 男性 32 例, 女性 24 例, 年龄 38~62 岁, 平均年龄 (40.3±6.7) 岁; 肝硬化病史 3~7 年, 平均病史 (4.9±1.2) 年, Child-pugh 分级 A 级 23 例, B 级 18 例, C 级 15 例。符合 2000 年西安会议《病毒性肝炎防治方案》肝硬化诊断标准^[3], 具有典型肝硬化临床表现并满足: (1) 血清抗-HCV 和 HCV-RNA 检测阳性; (2) 血清丙氨酸转氨酶 (ALT) 正常或升高。排除: (1) 原发性肝癌患者; (2) 自身免疫性、药物性、酒精性肝病患者; (3) HAV、HBV、HEV、EB 病毒感染及巨细胞病毒感染患者; (4) 严重心、脑、肾疾病患者; (5) 甲状腺疾病患者; (6) 妊娠或哺乳期妇女。

1.2 药物

复方苦参注射液由山西振东金晶制药有限公司生产, 规格规格 2 mL/L, 产品批号 20130419。

1.3 分组和治疗方法

所有患者均进行随机分组, 每组 28 例。分组方法为: 先将患者按照门诊就诊顺序发放计算机生成的随机号码, 然后按照随机号码以奇、偶数分组方法分为两组。治疗组男性 16 例, 女性 12 例, 平均

年龄 (40.1±5.9) 岁, 平均病史 (4.8±1.6) 年, Child-pugh 分级 A 级 11 例, B 级 9 例, C 级 8 例。对照组男性 16 例, 女性 12 例, 平均年龄 (40.4±6.2) 岁, 平均病史 (4.9±1.1) 年, Child-pugh 分级 A 级 12 例, B 级 9 例, C 级 7 例。两组患者年龄、性别组成、病情轻重程度等各方面比较差异无统计学意义, 具有良好的可比性。

两组治疗前半个月内均未使用干扰素、甘利欣等治疗。对照组根据病情采用一般保肝护肝处理, 如使用维生素 C、门冬氨酸钾镁等, 治疗组在对照组治疗基础上加用复方苦参注射液静脉滴注, 600 mg/次, 1 次/d。两组 3 个月为 1 个疗程, 连续治疗 2 个疗程后评价疗效。

1.4 观察指标

治疗前、后抽取患者空腹静脉血, 密度梯度离心后分类外周单核细胞, 与 37 °C、CO₂ 体积流量 50 mL/L 温箱中培养 72 h, 3 000 r/min 离心后收集上清液, -70 °C 保存。以酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定患者血清中白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-8 (IL-8)、白细胞介素-10 (IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平, 放免法测定血清中透明质酸 (HA)、III 型前胶原 (PC-III)、层黏连蛋白 (LN) 和 IV 型胶原 (IV-C) 水平。试剂均来自军事科学院研究所 (批号 20091283、20102322、20092221、20112932), 按说明书进行操作。并以 HCV RNA 阴转率表示对 HCV 的抑制作用, 以 ALT 复常率表示对肝脏炎症的改善程度。

$$\text{HCV RNA 转阴率} = \frac{\text{HCV RNA 转阴例数}}{\text{总例数}}$$

$$\text{ALT 复常率} = \frac{\text{复常例数}}{\text{总例数}}$$

1.5 PBMC 中 IL-10 mRNA 检测

以实时 PCR 法进行外周单核细胞 IL-10 mRNA 检测。将分离的单个核细胞 (PBMC) 以 Trizol 试剂抽提总 RNA, 逆转录后荧光标记法检测 PCR 产物。正向引物 5'-AATTCTCGAGAAAAGAGAGGCTGAAGCTATGCACAGCTGAGCACTG-3', 反向引物 5'-ATGCGCGCCGCGGTCTCAGTTTCGTATCTTC-3', 由广州晶美公司合成。反应参数: 预变性 95 °C、300 s, 95 °C、40 s, 60 °C、30 s, 70 °C、90 s, 循环 30 次, 72 °C 延伸 200 s。试剂均来自美国

Invitrogen 公司, PCR 仪来自德国 Roche 公司, 按说明进行操作。

1.6 统计学分析

研究所得数据均以双录入法录入到 SPSS 20.0 软件中, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式描述, 正态分布数据以 t 检验进行两组比较, 不符合正态分布的数据以 Wilcoxon 秩和检验进行分析; 计数数据以实际数描

述, χ^2 检验进行比较。

2 结果

2.1 两组患者疗效比较

治疗后治疗组 ALT 复常率为 34.56%, 高于对照组的 21.54%, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 治疗组 HCV RNA 阴转率为 9.34%, 高于对照组的 6.53%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 两组患者疗效比较

Table 1 Comparison on efficacies of patients in two groups

组别	n/例	ALT 复常率/%	HCV RNA 阴转率/%
治疗	28	34.56**	9.34*
对照	28	21.54	6.53

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ control group

2.2 两组患者治疗前后血清纤维化指标变化比较

治疗前两组患者肝纤维化 4 项指标无差异, 治疗后 HA 水平均低于治疗前, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 治疗后两组差异无统计学意义; PC-III、IV-C 治疗前后差异均无统计学意义; 治疗后两组 LN 均低于治疗前, 治疗前后差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 治疗后, 治疗组下降程度更为明显, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 2。

2.3 治疗前后两组血清细胞因子比较

治疗前两组患者血清细胞因子 IL-6、8、10、TNF- α 差异均无统计学意义; 治疗后, 两组 IL-6 水平均低于治疗前, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 但治疗后两组差异无统计学意义; 治疗后, 治疗组 IL-10 高于治疗前, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 两组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 两组治疗前后 IL-8 和 TNF- α 差异均无统计学意义, 见表 3。

表 2 两组患者治疗前后血清纤维化指标变化比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 28$)

Table 2 Comparison on serum fibrosis indexes in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$, $n = 28$)

组别	时间	HA/(ng·mL ⁻¹)	PC-III/(μ g·L ⁻¹)	LN/(ng·mL ⁻¹)	IV-C/(ng·mL ⁻¹)
治疗	治疗前	299.32 \pm 24.56	186.41 \pm 37.16	267.54 \pm 42.61	149.52 \pm 21.06
	治疗后	186.54 \pm 16.95**	175.48 \pm 24.62	100.03 \pm 28.95*** \blacktriangle	139.65 \pm 10.75
对照	治疗前	295.69 \pm 36.95	189.53 \pm 64.95	271.21 \pm 76.23	147.26 \pm 31.89
	治疗后	196.54 \pm 69.41**	176.21 \pm 34.45	220.15 \pm 41.26**	133.26 \pm 63.48

与同组治疗前比较: ** $P < 0.01$; 与对照组比较: $\blacktriangle P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs same group before treatment; $\blacktriangle P < 0.01$ vs control group

表 3 治疗前后两组血清细胞因子比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 28$)

Table 3 Comparison on serum cytokine in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$, $n = 28$)

组别	时间	IL-6/(ng·mL ⁻¹)	IL-8/(ng·mL ⁻¹)	IL-10/(ng·mL ⁻¹)	TNF- α /(μ g·L ⁻¹)
治疗	治疗前	63.52 \pm 16.95	284.54 \pm 69.65	17.35 \pm 5.48	2.05 \pm 0.53
	治疗后	56.51 \pm 14.51**	246.98 \pm 55.47	24.69 \pm 9.84** \blacktriangle	1.67 \pm 0.36
对照	治疗前	65.69 \pm 19.51	274.56 \pm 64.87	16.98 \pm 6.44	2.14 \pm 1.06
	治疗后	59.87 \pm 6.84**	266.95 \pm 59.53	18.51 \pm 5.92	1.99 \pm 1.32

与同组治疗前比较: ** $P < 0.01$; 与对照组比较: $\blacktriangle P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs same group before treatment; $\blacktriangle P < 0.05$ vs control group

2.4 外周单核细胞中 IL-10 mRNA 检测比较

两组患者治疗前 IL-10 mRNA 无差异, 治疗后, 治疗组 IL-10 mRNA 水平明显上升, 与治疗前比较

差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 治疗后治疗组 IL-10 mRNA 显著高于对照组, 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 4 外周单核细胞中 IL-10 mRNA 检测比较 ($\bar{x} \pm s, n = 28$)

Table 4 Comparison on IL-10 mRNA in peripheral monocytes of two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s, n = 28$)

组别	IL-10 mRNA	
	治疗前	治疗后
治疗	0.33 ± 0.13	0.56 ± 0.18**▲
对照	0.38 ± 0.12	0.43 ± 0.32

与同组治疗前比较: ** $P < 0.01$; 与对照组比较: ▲ $P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs same group before treatment; ▲ $P < 0.05$ vs control group

3 讨论

在丙型肝炎的感染过程中, Th 细胞分泌的细胞因子在一定程度上影响和决定着感染走向, 是免疫应答的重要部分。其中, Th1 细胞可分泌 IL-2、IL-12、TNF- β 、IFN γ 等细胞因子, 刺激 T 细胞增殖并激活 NK 细胞, 使淋巴细胞的细胞毒作用增强。Th2 细胞则主要分泌 IL-4、IL-10 等细胞因子, 其中 IL-10 含 160 个氨基酸, 可以抑制 Th1 细胞的增殖和免疫反应, 中和细胞外病原体, 诱导 B 细胞 MHC-II 型抗原的表达, 抑制机体的抗病毒效果, 学术界认为 IL-10 与丙型肝炎慢性化和肝纤维化有关^[4]。朱庆峰等^[5]对 48 I b 型慢性丙型肝炎患者调查发现, IL-10 与慢性丙型肝炎 HCV-RNA 载量密切相关。杨江华等^[6]也证实, 慢性丙型肝炎患者 IL-10 水平上升。张宏宇等^[7]对不同肝病患者的外周血 T 淋巴细胞亚群及细胞因子检测发现, Th 细胞功能变化与肝炎的进程有关, IL-10 可能参与肝细胞损伤过程。

复方苦参注射液由苦参、白土苓等组成, 有效成分为苦参碱、氧化苦参碱等生物碱, 具有抑癌、抗病毒、抗纤维化、调节机体免疫功能、保肝护肝等功效^[8]。进入肝细胞过程无需外源性能量辅助, 对肝脏负担小, 同时可使受损肝细胞磷脂序贯排列恢复正常, 帮助肝细胞膜恢复正常流动性。柴宁莉等^[9]研究发现, 氧化苦参碱脂质体能够作用于大鼠肝脏星状细胞 (HSC) 蛋白表达, 减少 TGF- β 1 表达, 阻断肝纤维化 TGF- β 1-Smad 途径信号转导, 具有抗肝纤维化功效。马永虹^[10]通过对 SD 大鼠肝硬化模型注射苦参碱注射液发现, 苦参碱可以抑制肝星状细胞活化, 抑制胶原合成, 并能抑制单核-吞噬细胞功能、减少氧化应激反应, 发挥防治肝纤维化和肝细胞保护作用。阳巧凤^[11]对丙型肝炎病毒转基

因小鼠注射苦参素发现, 低剂量的苦参素即具有抑制 HCV-DNA 复制的作用, 可以进行抗病毒治疗。多中心临床实验也证实, 苦参与干扰素联合应用对丙型肝炎的治疗在肝功能、症状、体征改善上有效率达 45%, 高于对照组 23.44%。而朱庆峰^[12]对 34 例丙肝患者保肝护肝常规治疗基础上增加氧化苦参碱治疗 6 个月后发现, 氧化苦参碱组肝纤维化 4 项指标、IL-6、IL-10 和 TGF- β 1 水平明显降低, 提示苦参碱抑制肝纤维化作用可能是通过抑制纤维母细胞生成, 促进细胞外基质 (ECM) 分解实现的。

本研究发现, 复方苦参注射液对 IL-10 影响最大, 治疗组外周血单核细胞 IL-10 水平和 IL-10 mRNA 明显增加。IL-6、IL-8 和 TNF- α 降低, 但差异并无统计学意义, 说明复方苦参注射液调整机体免疫功能的核心是 IL-10, 可能是通过促进 Th2 细胞、抑制 Th1 细胞增殖, 阻止细胞因子过度而发挥作用, 该过程有体液免疫和细胞免疫的增强。也有学者^[13]认为复方苦参注射液是通过 IL-10 分泌的增强, 反馈性增强 Th1 型细胞因子分泌, 该过程以细胞免疫应答为主。

通过以上分析, 复方苦参注射液对丙型肝炎肝硬化患者具有抗纤维化作用, 其机制可能是通过影响 IL-10 合成和分泌, 影响 Th1/Th2 抗炎促炎平衡实现的。

参考文献

- [1] 应若素, 陈志敏, 刘惠媛, 等. 白细胞介素-18 和白细胞介素-10 在慢性丙型肝炎抗病毒治疗中的动态变化 [J]. 实用医学杂志, 2010, 34(6): 334-336.
- [2] 郝洁, 田小军. 苦参素治疗慢性丙型肝炎患儿的疗效观察及护理 [J]. 中国实用护理杂志, 2011, 27(31): 39-41.

- [3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会和肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案 [J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324-327.
- [4] 朱银芳, 顾锡炳, 杨小娟, 等. 苦参素对慢性乙型肝炎患者外周血 CTL 表面 PD-1 表达的影响 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2012, 26(6): 446-448.
- [5] 朱庆峰, 左维泽, 刘佩芝, 等. 1b 型慢性丙肝患者血清 IL-10、IL-12 水平与 HCV-RNA 载量关系的研究 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(15): 314-316.
- [6] 杨江华, 侯为顺, 杨利才, 等. 聚乙二醇干扰素 α 对慢性丙型肝炎患者血清 IL-17、IL-10 与 TGF- β 的影响及意义 [J]. 临床消化病杂志, 2010, 22(3): 138-140.
- [7] 张宏宇, 何梅芳, 芮冬妹, 等. 不同肝病女性向患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 Th1 和 Th2 细胞因子的差异 [J]. 广东医学, 2014, 35(3): 206-208.
- [8] 石磊. 复发苦参注射液在 GP 方案化疗中晚期肝癌的临床效果分析 [J]. 中国现代药物应用, 2011, 5(21): 315-317.
- [9] 柴宁莉, 常青, 徐世平, 等. 氧化苦参碱脂质体对大鼠肝星状细胞作用的差异蛋白电泳分析 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(5): 261-263.
- [10] 马永虹. 苦参素注射液治疗慢性丙肝肝纤维化的临床观察 [J]. 中国实用医药, 2013, 8(6): 160-162.
- [11] 阳巧凤, 彭六保, 李健和, 等. 苦参生物碱类在慢性肝疾病中的应用 [J]. 中南药学, 2010, 8(4): 296-298.
- [12] 朱庆峰, 左维泽, 刘佩芝, 等. 抗病毒治疗对 1b 型慢性丙肝患者 PBMC IL-10、IL-12 水平变化影响的研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12(1): 11-13.
- [13] 高志星, 尤龙, 季万胜, 等. 苦参素防治肝纤维化的实验研究 [J]. 中华全科医学, 2009, 21(11): 276-278.