

doi:10.3969/j.issn.1005-0264.2019.01.003

茵芍二黄汤治疗原发性胆汁性胆管炎及对 Treg/TGF- β 轴调节的初步研究*

刘全忠 闫 乐 赵文霞

河南中医药大学第一附属医院脾胃肝胆病科 (河南 郑州, 450000)

摘 要 目的:观察茵芍二黄汤联合牛磺熊去氧胆酸胶囊治疗原发性胆汁性胆管炎(PBC)的临床疗效及其对外周血中 Treg 细胞及转化生长因子- β (TGF- β)、白介素 10(IL-10)的影响。方法:60 例 PBC 患者,参照数字法随机分为对照组 29 例及治疗组 31 例。对照组患者给予牛磺熊去氧胆酸胶囊 1 粒/次,3 次/d;治疗组患者在对照组用药基础上加用茵芍二黄汤,1 剂/d,煎煮后早晚分服,两组患者治疗疗程均为 24 周。观察两组患者中医临床症状积分,治疗前后血清 TBil、ALT、AST、ALP、GGT 情况,比较两组患者治疗前后临床疗效;检测两组患者治疗前后外周血中 Treg 细胞及血清 TGF- β 、IL-10 水平。结果:经治疗两组患者中医症状积分、肝功能均明显改善($P < 0.05$),治疗组优于对照组($P < 0.05$)。两组患者治疗后外周血中 Treg 细胞及血清中 TGF- β 、IL-10 明显增多($P < 0.05$),治疗组高于对照组($P < 0.05$)。结论:茵芍二黄汤联合牛磺熊去氧胆酸胶囊治疗 PBC 可显著改善患者临床症状及肝功能,通过调节外周血 Treg 细胞及其表达的特异细胞因子 TGF- β 、IL-10 水平是其治疗该病可能的机制之一。

关键词 茵芍二黄汤;牛磺熊去氧胆酸胶囊;原发性胆汁性肝硬化;Treg/TGF- β 轴

A Preliminary Study On The Treatment Of Primary Biliary Cholangitis And Treg/TGF- β Axis Regulation By Yin Shao Er Huang Recipe

LIU Quan-zhong, YAN Le, ZHAO Wen-xia. The department of digestive, The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine (Zhengzhou Henan, 450000) China

Abstract Objective: To observe the clinical efficacy of Yin Shao Er Huang Recipe and Tauroursodeoxycholic Acid Capsules on the treatment of PBC and the effect of TGF- β and IL-10 in peripheral blood. **Methods:** Sixty cases of PBC, according to the numerical method, were randomly divided into control group of 29 cases and treatment group of 31 cases. The control group was given 15mg/ (kg/d) and 3 times /day of Tauroursodeoxycholic acid capsules; On the basis of the control group, the treatment group was supplemented with Yin Shao Er Huang Recipe, 1 dose /day, After the decoction is done, both groups were treated for 24 weeks. Observe the clinical symptom integral of TCM in two groups, before and after of treatment serum TBIL, ALT, AST, ALP and GGT. The clinical efficacy of the two groups were compared before and after treatment. The levels of Treg cells and serum TGF- β and IL-10 were detected in peripheral blood before and after treatment in both groups. **Results:** The symptom score and liver function of the both groups were significantly improved ($P < 0.05$), And the treatment group was superior to the control group ($P < 0.05$). The TGF- β and IL-10 of Treg cells and serum in peripheral blood were significantly increased after treatment ($P < 0.05$), And the treatment group was higher than the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Yin Shao Er Huang Recipe and Tauroursodeoxycholic Acid Capsules could significantly improve the clinical symptoms and liver function of PBC patients. It is one of the possible mechanisms for the treatment of peripheral blood Treg cells and the specific cytokines TGF- β and IL-10.

Key Words Yin Shao Er Huang Recipe; Tauroursodeoxycholic Acid Capsules; Primary Biliary Cholangitis; Treg/TGF- β

* 基金项目:河南省中医药科学研究专项课题(No. 2016z2053)

原发性胆汁性胆管炎(PBC)是一种进行性肝内胆管淤积性的自身免疫性疾病,其病理特征为肝内小胆管及毛细胆管的慢性非化脓性破坏性胆管炎,若不及时治疗最终可导致肝硬化和肝衰竭^[1]。熊去氧胆酸(UDCA)是治疗 PBC 的主要药物,可改善其生化指标及肝脏组织学,延缓病情进展^[2]。但仍有 1/3 的 PBC 患者应用 UDCA 治疗无效,需要肝移植治疗^[3]。近年来,中医药在治疗 PBC 方面取得长足进展,我们在临床中发现本病后期病机特点多为湿热血瘀、阴虚燥热,依据其病证特点,在古方基础上化裁出茵芍二黄汤,以凉血解毒、活血润燥之法治疗原发性胆汁性肝硬化,取得满意的疗效^[4,5]。我们拟通过观察该方联合牛磺熊去氧胆酸胶囊治疗 PBC 患者前后外周血 Treg 细胞及其表达的特异细胞因子 TGF- β 、IL-10 的变化,探讨其治疗 PBC 的可能机制,并为临床用药提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 60 例患者均为 2015 年 8 月至 2016 年 12 月于河南中医药大学第一附属医院确诊为 PBC 的门诊及住院患者,数字法随机分为对照组 29 例及治疗组 31 例。治疗组女 24 例,男 7 例,平均年龄(53.4 ± 5.21)岁,病程 5 个月~4 年,平均(2.76 ± 0.7)年。对照组女 23 例,男 6 例,平均年龄(51.7 ± 3.7)岁,病程 7 个月~4.5 年,平均(2.53 ± 0.8)年。两组患者在性别、年龄、病程、病情等方面比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 参考《原发性胆汁性肝硬化的管理·美国肝病研究学会诊治指南》^[6]。①与胆汁淤积相关的血清生物化学改变:碱性磷酸酶(ALP)、谷氨酰转肽酶(GGT)等升高且无其他解释(B 超检查:胆道系统正常),抗线粒抗体(AMA)阳性(滴度 $\geq 1:40$)或 AMA-M2 亚型阳性,则基本可确诊为 PBC;②AMA 或 AMA-M2 阴性者,则应做抗核抗体(ANA)、抗平滑肌抗体及免疫球蛋白检查,肝活检符合 PBC 病理改变。

1.2.2 中医诊断标准 中医诊断标准依据《肝硬化临床诊断、中医辨证和疗效评定标准(试行方案)》中的黄疸、胁痛、腹胀、虚劳的诊断标准。

1.3 纳入标准 ①符合上述诊断标准;②年龄 20~65 岁;③首次症状发作或实验室检查异常确诊后,1 周内未使用与本方案无关药物;④无门静脉高压、腹腔积

液等肝硬化失代偿表现;⑤总胆红素(TBil) $\leq 170.0 \mu\text{mol/L}$,血清白蛋白(Alb) $\geq 34\text{g/L}$;⑥自愿接受本研究药物治疗,并签署同意书者。

1.4 排除标准 ①肝炎病毒感染、长期饮酒及接触毒物或服用具有肝损害药物者;②Child-Pugh 分级评分 >13 分;③合并感染、消化道大出血、大量顽固性腹水、肝肾综合征、肝性脑病等终末期并发症者;④血小板 $<60 \times 10^9/\text{L}$;⑤合并肿瘤及严重心、肾等系统脏器疾病者;⑥妊娠或哺乳期妇女;⑦自身免疫性肝炎(PBC-AIH)重叠综合征、PBC 第Ⅲ及Ⅳ阶段患者。

1.5 治疗方法 对照组患者给予牛磺熊去氧胆酸胶囊(滔罗特胶囊,250mg/粒,意大利贝斯迪大药厂,药准字号:国药准字 H20110233),1 粒/次,餐后口服,3 次/d,配合常规保肝治疗。治疗组患者在对照组基础上加用茵芍二黄汤,组成:茵陈、赤芍各 45g,黄芩、生地黄各 30g,秦艽、茜草各 20g,豨莶草 15g,水煎取汁 400ml,每日 1 剂,早晚分两次口服,两组患者均治疗 24 周。

1.6 观察指标 ①观察两组患者治疗前后中医临床症状改善与积分变化,参照《中药新药临床研究指导原则》标准进行。主要包括:皮肤瘙痒、身目黄染、食欲不振、肝区疼痛,按照无、轻、中、重分别计为 0、1、2、3 分,各项症状评分相加即为中医临床症状积分。②观察两组患者治疗前后肝功能的变化,包括总胆红素(TBil)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、谷氨酰转肽酶(GGT),采取全自动生化分析仪测定。③采用流式细胞仪于测定两组患者治疗前后外周血 Treg 细胞的变化。④采用酶联免疫吸附法检测两组患者治疗前后血清 TGF- β 、IL-10 变化,试剂盒均由上海拜沃生物科技有限公司提供,批号分别为 BV-E17006105、BV-E17006133。

1.7 统计学方法 数据结果采用 SPSS 19.0 统计分析软件进行分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,数据符合正态分布、方差齐性者采用 t 检验;非正态分布者采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后中医临床症状改善情况 见表 1。

2.2 两组患者治疗前后肝功能变化情况比较 见表 2。

2.3 两组患者治疗前后外周血 Treg 细胞、TGF-β、IL-10 的比较 见表 3。

表 1 两组患者治疗前后临床症状改善情况比较 [n(%)]

组别	皮肤瘙痒	身目黄染	食欲不振	肝区疼痛	症状积分
治疗组	治疗前 25(80.6)	23(74.2)	16(51.6)	17(54.8)	17.38 ± 3.91
(n=31)	治疗后 4(12.9)* [△]	5(16.1)* [△]	3(9.7)* [△]	2(6.4)* [△]	4.73 ± 2.87* [△]
对照组	治疗前 24(82.8)	22(75.9)	14(48.3)	18(62.1)	16.67 ± 3.27
(n=29)	治疗后 8(27.6)*	10(34.5)*	7(24.1)*	9(31.0)*	9.56 ± 3.05*

与本组治疗前比较, *P<0.05; 与对照组治疗后比较, [△]P<0.05

表 2 两组患者治疗前后肝功能变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	TBil (μmol/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALP(U/L)	GGT(U/L)
治疗组	治疗前 97.15 ± 9.34	121.13 ± 14.21	141.32 ± 41.22	342.22 ± 76.15	263.24 ± 37.17
(n=31)	治疗后 31.24 ± 11.14* [△]	25.12 ± 6.15* [△]	32.22 ± 5.13* [△]	89.32 ± 21.03* [△]	53.11 ± 9.31* [△]
对照组	治疗前 95.31 ± 9.68	120.28 ± 15.24	142.62 ± 38.16	341.43 ± 78.31	257.2 ± 36.54
(n=29)	治疗后 57.57 ± 12.32*	65.42 ± 7.15*	71.27 ± 7.32*	167.2 ± 22.23*	89.82 ± 6.46*

与本组治疗前比较, *P<0.05; 与对照组治疗后比较, [△]P<0.05

表 3 两组患者治疗前后外周血 Treg 细胞、TGF-β、IL-10 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Treg	TGF-β(pg/ml)	IL-10(μg/ml)
治疗组	治疗前 1.77 ± 0.34	13.97 ± 4.12	6.83 ± 0.71
(n=31)	治疗后 3.92 ± 0.61* [△]	48.73 ± 5.39* [△]	20.04 ± 1.31* [△]
对照组	治疗前 1.68 ± 0.36	14.09 ± 3.98	6.76 ± 0.69
(n=29)	治疗后 6.09 ± 0.55*	28.96 ± 5.21*	13.43 ± 1.25*

与本组治疗前比较, *P<0.05; 与对照组治疗后比较, [△]P<0.05

3 讨论

根据 PBC 不同疾病阶段的临床主证可归属为“黄疸、胁痛、积聚”等范畴。通过前期研究,我们认为 PBC 的发病多因正气亏损,情志不遂,劳逸过度,加之后天感湿热之邪,导致气血瘀滞,阻于肝络,久结癥积,病机主要是湿热血瘀、阴虚血燥,提出凉血解毒、活血润燥的基本治法,并研制茵芍二黄汤。方中以茵陈清气分湿热、赤芍清血分瘀热共为君药;黄芩清热解暑,生地黄凉血养阴共为臣药;秦艽可利湿退黄除蒸,茜草可凉血化瘀通经,两药共为佐药;豨莶草归肝经,有通经活络之功,用为使药。诸药合用使湿浊得化、热毒得清、阴血得复、瘀结得散、经气得通,肝体得养。

本研究结果显示,茵芍二黄汤联合牛磺熊去氧胆酸胶囊治疗 PBC,能有效减轻患者皮肤瘙痒、身目黄染、食欲不振、肝区疼痛等临床症状,并在中医症状积

分、肝功能改善方面优于对照组,这与该方以往相关报道一致^[4,5]。

PBC 发病机制较为复杂,其病因一般与遗传易感、环境使动因素及自身免疫因素相关。Treg 细胞属 Th 细胞亚群,在维持机体免疫平衡方面发挥作用。Treg 细胞异常状态与 PBC 的发生和病程密切相关^[7]。Treg 细胞在维持免疫耐受和负性调节免疫应答方面具有重要作用,其可能通过细胞间的接触抑制或释放 IL-10、TGF-β 等抑制性细胞因子来抑制效应 T 细胞的异常增殖,维持自身免疫耐受,从而保持机体内环境稳定,防止机体免疫平衡的失控^[8,9]。本研究结果显示,茵芍二黄汤联合牛磺熊去氧胆酸胶囊较对照组可能明显升高患者外周血 Treg 细胞,增加 TGF-β、IL-10 水平。故而改变 Treg 细胞数量并调节其分泌细胞因子水平可能是该方的作用机制之一,其确切的作用靶点有待进一步研究探讨。

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] Kim KA, Jeong SH. The diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis[J]. Korean Hepatol, 2011, 17: 173-179.
- [4] 刘全忠, 李素领, 郝尧坤. 化湿润燥活血养正法治疗原发性胆汁性肝硬 25 例临床观察[J]. 中西医结合肝病杂志, 2016, 26(4): 4244-4246.
- [5] 刘全忠, 李素领, 梁浩卫. 祛湿活血退黄散治疗原发性胆汁性肝硬 化患者 60 例临床观察[J]. 中医临床研究, 2016, 8(22): 30-31.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Sakaguchi S, Ono M, Seiguchi R, et al. Foxp3 + CD25 + CD4 + natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease[J]. Immunol Rev, 2006, 212: 8-27.
- [9] 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.

(收稿日期: 2018-06-01 编辑: 黄育华)