

# 肝豆汤Ⅳ号联合短期驱铜治疗对肝豆状核变性患者 肝纤维化血清学指标的影响

薛本春<sup>1</sup> 杨任民<sup>1</sup> 胡纪源<sup>1</sup> 韩咏竹<sup>1</sup> 王居华<sup>2</sup>

**摘要** 目的 观察肝豆汤Ⅳ号治疗对肝豆状核变性(WD)患者肝纤维化血清学指标的影响以及对肝功能的作用。方法 61例WD患者分为二巯基丙磺酸钠(DMPS)组(30例)和肝豆汤Ⅳ号组(31例)。DMPS组单纯予DMPS驱铜,肝豆汤Ⅳ号组予DMPS驱铜同时,口服中药复方肝豆汤Ⅳ号,均治疗8个疗程(6天1个疗程)。两组治疗前后测定肝功能,采用双抗体夹心ABC-EIASA法检测血清基质金属蛋白酶-1(MMP-1)及其组织抑制因子(TIMP-1);放射免疫法(RIA)检测血清透明质酸(HA)、层粘蛋白(LN)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(C-Ⅳ)。结果 治疗后DMPS组肝纤维化血清学指标及肝功能指标变化不明显( $P>0.05$ );而肝豆汤Ⅳ号组治疗后血清TIMP-1明显下降( $P<0.05$ ),MMP-1/TIMP-1的比值明显升高( $P<0.01$ ),血清HA、LN、PCⅢ仅略有下降( $P>0.05$ ),血清C-Ⅳ、MMP-1略有升高( $P>0.05$ ),肝功能指标明显下降( $P<0.05$ )。结论 WD患者短期内单纯驱铜治疗并不能改变血清肝纤维化指标水平及肝功能,而联合应用中草药肝豆汤Ⅳ号治疗可以明显改善肝功能,并且可能通过抑制TIMP-1水平,提高MMP-1/TIMP-1的比值,而发挥抗肝纤维化作用。

**关键词** Wilson病;肝纤维化指标;基质金属蛋白酶-1;组织抑制因子-1;肝豆汤Ⅳ号

**Effect of Gandou Decoction Ⅳ Combined with Short-term Decoppering Therapy with Sodium Dimercaptosulphonate on Serum Indexes of Hepatic Fibrosis in Patients with Wilson's Disease** XUE Ben-chun, YANG Ren-min, HU Ji-yuan, et al *Institute of Neurology, Affiliated Hospital of Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei (230061)*

**Abstract Objective** To observe the effect of Gandou Decoction Ⅳ (GDⅣ) on serum indexes of hepatic fibrosis and liver function in patients with Wilson's disease (WD). **Methods** Sixty-one WD patients were assigned to two groups, 30 patients in the sodium dimercaptosulphonate (DMPS) group and 31 patients in the GD Ⅳ group. Both groups received 8 courses of DMPS treatment with 6 days as one course, and the GD Ⅳ group was given GD Ⅳ additionally. Serum indexes of liver function were examined, serum matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) were detected by double antibody sandwich ABC enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and serum hyaluronic (HA), laminin (LN), procollagen Ⅲ (PCⅢ) and collagen type Ⅳ (C-Ⅳ) were determined by radioimmunoassay (RIA). **Results** After treatment, all indexes of hepatic fibrosis and liver function had no significant change in the DMPS group, while in the GD Ⅳ group, the serum TIMP-1 level markedly decreased ( $P<0.05$ ), the ratio of MMP-1/TIMP-1 significantly increased ( $P<0.01$ ), and serum indexes of liver function markedly decreased ( $P<0.05$ ), but the changes in serum levels of HA, LN and PCⅢ, as well as in serum MMP-1 and C-Ⅳ were insignificant ( $P>0.05$ ), though they showed a trend of decreasing or increasing, respectively. **Conclusion** Short-term decoppering treatment with DMPS alone has no significant effect on hepatic function and serum fibrosis indexes in WD patients, while combined with GD Ⅳ, it can improve liver function and display an anti-fibrosis effect through inhibiting the serum TIMP-1 level and increasing the ratio of MMP-1/TIMP-1.

**Key words** Wilson's disease; serum indexes of hepatic fibrosis; matrix metalloproteinase-1; tissue inhibitor of metalloproteinase-1; Gandou Decoction Ⅳ

作者单位:1.安徽中医学院神经病学研究所附属医院(合肥 230061);2.安徽中医学院  
通讯作者:薛本春, Tel:0551-2835522 转 8051, E-mail: xuebenchun2007@126.com

肝豆状核变性又称 Wilson 病 (Wilson's disease, WD), 是一种常染色体隐性遗传性铜代谢障碍疾病。由于铜代谢生理机制异常, 患者体内过量铜沉积, 造成以肝、脑等为主的全身脏器功能损害<sup>[1,2]</sup>。肝纤维化或肝硬化几乎是每一个 WD 患者肝脏的主要病理改变<sup>[3,4]</sup>, 肝硬化也是该病患者死亡的最主要原因之一, 因此重视对早期肝硬化特别是其前期病理阶段——肝纤维化的干预治疗研究具有十分重要的临床意义。多年来我院在二巯基丙磺酸钠 (DMPS) 和肝豆汤 I 号驱铜治疗的基础上, 采用中药复方肝豆汤 IV 号抗肝纤维化治疗取得了满意的疗效。由于基质金属蛋白酶-1 (MMP-1)、组织抑制因子 (TIMP-1)、透明质酸 (HA)、层粘蛋白 (LN)、III 型前胶原 (PCIII)、IV 型胶原 (C-IV) 这些肝纤维化血清指标与肝组织纤维化病理分期有良好的相关性, 联合检测能较好地反映肝纤维组织的合成与降解代谢, 并能判断抗纤维化治疗效果<sup>[5,6]</sup>。因此本研究通过观察我院经验方肝豆汤 IV 号治疗对 WD 患者上述 6 个血清学指标以及肝功能的影响, 进一步阐释该方抗肝纤维化作用机制。

### 资料与方法

1 病例选择 61 例 WD 患者来自安徽中医学院神经病学研究所附属医院 2005 年 9 月—2006 年 4 月期间住院患者。均为未经驱铜治疗的初诊患者或近 6 个月以上未正规驱铜治疗的复诊患者。所有病例均符合 WD 诊断标准<sup>[2]</sup>。

2 一般资料 根据患者病程, 以入院顺序号随机分为两组, 即 DMPS 组和肝豆汤 IV 号组 (简称肝豆汤组)。DMPS 组 30 例, 男 17 例, 女 13 例, 年龄 8~32 岁, 平均 (22.3 ± 8.5) 岁, 病程 6 个月~4 年, 平均 (24.8 ± 12.6) 个月。肝豆汤组 31 例, 男 17 例, 女 14 例, 年龄 9~30 岁, 平均 (23.1 ± 7.8) 岁, 病程 9 个月~3.5 年, 平均 (23.5 ± 13.9) 个月。两组性别、平均年龄、病程比较均无差异 ( $P < 0.05$ )。

3 治疗方法 DMPS 组单纯予 DMPS (由上海旭东海普药业有限公司生产) 20 mg / (kg · d) 溶于 5% 葡萄糖注射液 500 mL 中静脉滴注, 6 天为 1 个疗程, 治疗 8 个疗程, 每个疗程间休息 2 天, 共 54 天; 肝豆汤组用 DMPS 驱铜同时, 加服中药肝豆汤 IV 号 (大黄、丹

参、苦参、黄芪、泽泻等组成), 水煎服, 每日 1 剂, 治疗 54 天。

4 观察指标 两组治疗前后分别采外周静脉血。血清 MMP-1、TIMP-1 测定采用双抗体夹心 ABC-EIASA 法, 试剂盒由美国 RB 公司提供; 血清 HA、LN、PCIII、C-IV 测定采用放射免疫法, 试剂盒由上海海研医学生物技术有限公司提供。各指标测定均严格按照试剂盒说明书提供的操作步骤进行。血清总胆红素 (TBIL)、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、球蛋白 (G) 等肝功能指标用全自动生化分析仪测得。

5 统计学方法 采用 SPSS 11.5 软件进行统计学处理, 采用配对样本  $t$  检验。

### 结果

1 两组治疗前后肝功能变化 (表 1) DMPS 组疗后血清 TBIL、ALT、AST、G 较疗前差异均无显著性 ( $P > 0.05$ ); 肝豆汤组疗后血清 TBIL、ALT、AST 均较疗前明显下降, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 两组疗后肝功能各指标比较差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。

表 1 两组治疗前后肝功能指标的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	时间	TBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	G (g/L)
肝豆汤	31	治前	52.40 ± 36.86	57.25 ± 30.22	55.45 ± 28.73	34.80 ± 7.65
		治后	38.45 ± 31.33*	32.36 ± 20.10*	40.12 ± 19.71*	30.68 ± 7.03
DMPS	30	治前	49.94 ± 32.10	58.24 ± 26.18	52.65 ± 31.32	35.20 ± 6.25
		治后	46.13 ± 33.98 <sup>△</sup>	52.68 ± 27.35 <sup>△</sup>	50.46 ± 29.98 <sup>△</sup>	36.45 ± 7.03 <sup>△</sup>

注: 与本组治疗前比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与肝豆汤组治疗前后比较, <sup>△</sup>  $P < 0.01$ ; 表 2 同

2 两组治疗前后肝纤维化指标的变化 (表 2) 治疗后 DMPS 组血清各肝纤维化指标与治疗前比较, 差异无显著性 ( $P > 0.05$ ); 肝豆汤组 TIMP-1 较治疗前明显减低 ( $P < 0.05$ ), MMP-1/TIMP-1 比值较治疗前明显增高 ( $P < 0.01$ ), 而 HA、LN、PCIII 略有下降, C-IV、MMP-1 略有升高, 差异均无显著性 ( $P > 0.05$ ); 肝豆汤组疗后 TIMP-1 较 DMPS 组疗后明显减低, MMP-1/TIMP-1 比值较 DMPS 组明显增高, 差异均有显著性 ( $P < 0.01$ ), 而其他肝纤维化血清指标两组间疗后比较, 差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。

### 讨论

肝纤维化是肝硬化的前期病理阶段, 是肝脏受到慢性损伤时细胞外基质 (ECM) 可逆性沉积的创伤愈

表 2 两组治疗前后肝纤维化指标的变化 (ng/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	时间	HA	LN	PCIII	C-IV	MMP-1	TIMP-1	MMP-1/TIMP-1
肝豆汤	31	治前	236.99 ± 66.82	174.27 ± 50.42	148.31 ± 40.34	128.36 ± 57.75	129.85 ± 15.32	67.62 ± 18.07	2.04 ± 0.50
		治后	227.38 ± 64.19	169.24 ± 48.37	144.77 ± 38.52	132.79 ± 58.16	137.23 ± 21.07	59.27 ± 12.89*	2.43 ± 0.67**
DMPS	30	治前	232.10 ± 62.38	179.00 ± 49.43	151.27 ± 41.17	130.28 ± 37.82	127.74 ± 13.68	69.62 ± 13.97	1.98 ± 0.34
		治后	229.21 ± 63.36	176.11 ± 51.25	152.94 ± 40.47	127.40 ± 40.42	129.15 ± 16.77	67.97 ± 13.31 <sup>△</sup>	2.01 ± 0.41 <sup>△</sup>

合过程<sup>[7]</sup>。WD 作为铜代谢障碍性疾病,其发生肝纤维化的根本原因是由于铜离子向胆道排泄困难,造成游离铜在肝组织内缓慢蓄积,通过激活肝星形细胞,导致肝损伤修复时 ECM 的合成与降解不平衡,特别是后期 ECM 降解减少是导致 WD 发生肝纤维化或肝硬化的主要机制<sup>[3]</sup>。目前认为:MMP-1、TIMP-1 是参与 ECM 降解代谢的主要酶,MMP-1 可特异性地降解肝纤维化组织中的 I、III 型胶原。而 TIMP-1 通过与有活性的 MMP-1 以 1:1 的分子比例非共价结合,从而抑制 MMP-1 对 ECM 的降解活性<sup>[8]</sup>。研究表明随着肝纤维化程度的加重,肝组织中 TIMP-1 表达水平逐渐增强,MMP-1 表达水平逐渐减弱,相应地血清 TIMP-1 水平愈高,MMP-1 水平愈低<sup>[9,10]</sup>。血清 MMP-1/TIMP-1 的比值提高,说明体内 TIMP-1 对 MMP-1 抑制程度减弱,故能够相对提高体内 MMP-1 对 ECM 的降解活性。因此通过测定血清 MMP-1、TIMP-1 及 MMP-1/TIMP-1 的比值可以评估 WD 肝纤维化程度,并且可以动态观察肝纤维化加重或减轻演变过程<sup>[11,12]</sup>。血清 HA、LN、PCⅢ、C-Ⅳ 因为能够反映胶原、非胶原糖蛋白及蛋白多糖等 ECM 构成成分或其代谢产物,因此也可以较好地反映 WD 肝纤维化程度。

本研究观察到 WD 患者在短期内(2~3 个月)单纯予 DMPS 驱铜治疗,血清 HA、LN、PCⅢ 等反映肝纤维合成的指标并没有明显下降,血清 MMP-1、MMP-1/TIMP-1 等反映肝纤维降解的指标也没有明显增高,同时肝功能指标也未有明显改善,表明短期内单纯驱铜治疗尚不足以影响肝纤维组织的合成与降解代谢。这与本院以往的研究结果一致<sup>[13]</sup>,推测其原因:(1)短期内 DMPS 驱铜治疗,可能主要排出体内蓄积的游离铜,而肝组织内深部的结合铜排出可能较少,因此肝组织内铜离子仍作为独立的刺激因子持续激活肝星形细胞,并促进 ECM 合成;(2)由于铜在肝组织内蓄积,造成肝细胞炎症、坏死,而驱铜治疗后肝组织损伤修复需要一个较长的时间,因此短期驱铜治疗后,肝细胞炎症、坏死并不能很快消失,故仍可进一步激活肝星形细胞,造成 ECM 大量合成,不能快速、有效地逆转导致 WD 发生肝纤维化或肝硬化的复杂病理机制,因而肝纤维化血清学指标及肝功能指标可暂无明显变化,甚至个别患者有某些肝纤维化血清学指标及肝功能指标反呈升高趋势。

肝豆汤 IV 号是我院的经验方,多年来我院对各型 WD 患者进行了深入的临床观察,在中医辨证分型的基础上,确立了以清热解毒、活血化痰、通腑利尿为治

则,以大黄、丹参、苦参、黄芪、泽泻等为主药的中医方剂治疗方法。如洪铭范等研究表明,以肝豆汤为主的综合治疗方法可促进 WD 患者肝硬化及肝功能的恢复<sup>[14]</sup>。本研究观察到,肝豆汤 IV 号联合 DMPS 驱铜治疗可以在短期内显著改善肝功能,并且明显降低血清 TIMP-1 水平,显著提高血清 MMP-1/TIMP-1 的比值。由于血清 TIMP-1 降低及血清 MMP-1/TIMP-1 的比值提高,反映了 WD 患者体内 TIMP-1 对 MMP-1 活性的抑制程度减弱,因而可促进 MMP-1 对 ECM 的降解,减少 ECM 在肝脏的沉积,最终逆转肝纤维化的进展。本研究还发现:肝豆汤 IV 号联合 DMPS 驱铜治疗后,血清 HA、LN、PCⅢ 等反映肝纤维合成的指标并没有明显下降,表明:短期内联合肝豆汤 IV 号治疗尚不足以影响肝纤维组织的合成代谢。因此推测肝豆汤 IV 号抗 WD 肝纤维化作用机制可能主要通过影响肝纤维化组织中 ECM 的降解代谢,即通过抑制 TIMP-1 的表达,进而提高 MMP-1/TIMP-1 的比值,即间接通过提高 MMP-1 对 ECM 的降解活性,促进肝纤维化组织中 ECM 的降解,从而逆转肝纤维化的发展,并显著改善肝功能。

#### 参 考 文 献

- 1 孙 怡,杨任民.实用中西医结合神经病学.北京:人民卫生出版社,1999:531—546.
- 2 杨任民主编.肝豆状核变性.合肥:安徽科技出版社,1995:16—156.
- 3 孙艳玲,赵景民,李文淑,等.儿童 Wilsons 病的临床病理特征及其肝纤维化机制探讨.解放军医学杂志 2005;30:(4) 300—302.
- 4 胡锡琪,张绵生.肝纤维化的病理诊断实践与理论.诊断学理论与实践 2005;4(1):71—74.
- 5 黄莉萍,陈永鹏,丁红兵,等.肝纤维化血清学指标与慢性肝炎组织炎症及纤维化的相关性.第一军医大学学报 2001;21(2):116—117,120.
- 6 蔡卫民,张彬彬,翁红雷,等.八项肝纤维化血清标志物比较研究.中华肝病杂志 2004;12(4):219—221.
- 7 李定国,陈瀚伟.肝纤维化研究现状及展望.上海第二医科大学学报 2005;25(2):101—102.
- 8 Kobayashi H, Li ZX, Yamataka A, et al. Clinical evaluation of serum levels of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases as predictors of progressive fibrosis in postoperative biliary atresia patients. J Pediatr Surg 2002;37(7):1030—1033.
- 9 杨长青,胡国龄,谭德明等.实验性肝纤维化时 MMP-1、TIMP-1 的表达与 I、III 型胶原含量变化的关系.临床肝病杂志 2000;16(4):222—224.

10 朱跃科, 王宝恩, 申凤俊, 等. 肝纤维化过程中胶原、MMPs、TIMPs 表达的动态变化及相互关系. 中华肝病杂志 2004;12(10):612-615.

11 Murawaki Y, Ikuta Y, Idobe Y, et al. Serum matrix metalloproteinases in patients with chronic viral hepatitis. J Gastroenterol Hepatol 1999;14(2):138-145.

12 Boeker KH, Haberkorn CI, Michel D, et al. Diagnostic potential of circulating TIMP-1 and TIMP-2 as markers of liver

fibrosis in patients with chronic hepatitis C. Clin Chim Acta 2002;316(1-2):78-81.

13 丛时兵, 洪铭范, 韩咏竹. 驱铜治疗对肝豆状核变性患者肝纤维化干预作用的研究. 安徽医学 2004;25(4):270-271.

14 洪铭范, 杨任民. 中西医结合治疗对 146 例肝豆状核变性患者肝硬化及肝功能的改善作用. 中国中西医结合杂志 2000;20(12):890-892.

(收稿:2007-02-25 修回:2007-06-21)

## 中药补肾联合克罗米酚及人绒毛膜促性腺激素治疗多囊卵巢综合征不育患者 102 例

王会敏 苏藏书 张彦敏 任美霞

多囊卵巢综合征(PCOS)是妇科常见病。以雄激素过多和持续无排卵为主要临床特征。我们应用中药补肾配合克罗米酚(CC)、人绒毛膜促性腺激素(HCG)治疗本病,取得较好疗效。现报告如下。

### 资料与方法

1 病例选择与分组 选择 2004 年 1 月—2006 年 1 月就诊于我院不孕不育科的 PCOS 不育患者 204 例。PCOS 的诊断依据为 2003 年鹿特丹会议修正的诊断标准:(1)稀发排卵或无排卵;(2)高雄激素的临床和(或)生物化学征象;(3)多囊卵巢:超声提示卵巢体积 $\geq 10$  mL 或同一个切面上直径 2~9 mm 的卵泡数 $\geq 12$  个。以上 3 项中具备 2 项可诊断。全部病例符合下列条件:(1)年龄 $\leq 35$  岁;(2)排除男方、女性输卵管及子宫内膜因素所致的不育;(3)治疗前 3 个月未用激素类及其他影响生殖内分泌的药物,并非除甲状腺、肾上腺疾患及糖尿病。将患者按就诊顺序单双号分为 2 组,每组 102 例。不育年限 $\geq 3$  年的治疗组 75 例,对照组 68 例;有高雄激素血症的治疗组 75 例,对照组 68 例;胰岛素抵抗的治疗组 38 例,对照组 42 例;多囊卵巢的治疗组 83 例,对照组 79 例;根据体重指数(BMI)肥胖者治疗组 58 例,对照组 52 例。全部病例均有月经紊乱或闭经。两组一般资料比较差异无显著性( $P > 0.05$ ),有可比性。

2 治疗方法 两组均予 CC/HCG 促排卵治疗:月经或撤退出血的第 5 天给 CC(上海衡山药业有限公司生产)50 mg,每天 1 次口服,共 5 天。停药 3 天后开始每 1~2 天 1 次阴道超声检查,直至卵泡直径达 18 mm,肌肉注射 HCG(丽珠集团丽宝生物化学制药有限公司生产)5 000~10 000 IU,诱发排卵,嘱患者在注射 HCG 24 h 后同房。如卵巢平均直径 $\geq 6$  cm,则停用 HCG,以防卵巢过度刺激综合征(OHSS)发生。对于有高雄激素血症的 PCOS 患者先用 3 个周期的炔雌醇环内孕酮做预备治疗;对于有肥胖或胰岛素抵抗的 PCOS 患者,先动员患者减肥或应用二甲双胍做预备治疗 3 个月,然后再开始以上治疗。

治疗组加用中药补肾治疗:在辨证论治的基础上分两期进

行治疗。(1)卵泡期:治以温补肾阳,辅以滋补肾阴,以促进卵泡发育、成熟。药用仙茅 12 g 仙灵脾 12 g 巴戟天 12 g 续断 12 g 山茱萸 15 g 紫河车 10 g 菟丝子 15 g 枸杞子 15 g 女贞子 15 g 五味子 10 g。在月经周期第 5 天始服至卵泡发育成熟。(2)黄体期:治以滋补肾阴,辅以温补肾阳。意在排卵成功后,维持黄体功能。药用白芍 15 g 熟地 15 g 枸杞子 15 g 覆盆子 15 g 山茱萸 12 g 女贞子 15 g 续断 15 g 山药 15 g 黄精 10 g 何首乌 15 g,在排卵成功后始服 15 剂。(3)加减用药:兼湿邪者加薏苡仁 15 g,茯苓 12 g,兼气滞血瘀者加元胡 12 g,丹参 15 g,桃仁 10 g,红花 10 g;两组均连续观察治疗 6 个月经周期。

疗效标准:痊愈:治疗期间或停药 3 个月内妊娠;有效:治疗周期中排卵成功但未受孕;无效:治疗周期中无优势卵泡发育或发生未破卵泡黄素化综合征。

统计学方法:采用  $\chi^2$  检验比较两组疗效。

结果 治疗组妊娠 58 例(56.86%),排卵 85 例(83.33%),无效 17 例(16.67%)。对照组妊娠 32 例(31.37%),排卵 81 例(79.41%),无效 21 例(20.59%)。两组妊娠率比较差异有显著性( $P < 0.05$ ),两组排卵率比较差异无显著性。治疗组有 2 例双胎,1 例为双卵双胎,1 例为单卵双胎。对照组有 1 例双胎,为双卵双胎,1 例宫外孕,经保守治疗痊愈。未发生 OHSS。服药期间,肝肾功能,心电图均无明显改变,未见明显不良反应。

讨论 克罗米酚是国内外公认为有效的促排卵药,上个世纪 60 年代开始应用于临床,由于其具有价廉、服用方便、副反应少等优点,所以现在仍然是治疗 PCOS 不育患者的首选药物,但 CC 有对抗雌激素的副作用,使宫颈黏液黏稠,子宫内膜变薄,不利于精子上行和孕卵着床,故有高排卵率低受孕率的特点。我们应用中药补肾联合 CC/HCG,明显提高了受孕率,可能是补肾中药具有雌激素样作用,恰当调整了体内激素水平,使宫颈黏液变稀,子宫内膜变厚,有利于精子上行和孕卵着床,其确切的机制有待于今后进一步研究。

作者单位:河北省衡水西苑医院(河北 053000)

(收稿:2006-04-22 修回:2006-10-14)