

肝豆汤 II 号干预治疗 Wilson 病患者肝纤维化机制探讨

薛本春 杨任民 胡纪源 韩咏竹 王居华

【摘要】目的 观察我院经验方-肝豆汤 II 号治疗对 Wilson 病(WD)患者血清基质金属蛋白酶-1(MMP-1)、金属蛋白酶-1 组织抑制因子(TIMP-1)和其它肝纤维化血清学指标(HA、LN、PCⅢ、C-IV)以及肝功能的影响,进一步阐释该方抗肝纤维化作用机制。方法 61 例 WD 患者分为 DMPS 组(30 例)和 DMPS+肝豆汤 II 号组(31 例)。DMPS 组单纯予 DMPS 驱铜治疗 8 个疗程,DMPS+肝豆汤 II 号组予 DMPS 驱铜同时,口服肝豆汤 II 号治疗 8 周。两组治疗前后分别采用双抗体夹心 ABC-EIASA 法检测血清 MMP-1、TIMP-1;放射免疫法(RIA)检测血清 HA、LN、PCⅢ、C-IV;全自动生化分析仪测定 ALT 等肝功能指标。结果 DMPS 组治疗前后所有肝纤维化血清学指标及肝功能指标变化不明显($P>0.05$);而 DMPS+肝豆汤 II 号组治疗后血清 TIMP-1 水平明显下降($P<0.05$),血清 MMP-1/TIMP-1 的比值明显升高($P<0.01$);ALT 等肝功能指标明显下降($P<0.05$)而血清 HA、LN、PCⅢ水平仅略有下降($P>0.05$),血清 C-IV、MMP-1 亦仅略有升高($P>0.05$)。结论 WD 患者短期内单纯驱铜治疗并不能改变血清 MMP-1、TIMP-1 等肝纤维化指标水平及肝功能,而联合应用肝豆汤 II 号治疗可以改善肝功能,并且通过抑制 TIMP-1 的表达,提高 MMP-1/TIMP-1 的比值,即间接通过提高 MMP-1 对细胞外基质(ECM)的降解活性,而发挥抗肝纤维化作用。

【关键词】 Wilson 病;MMP-1;TIMP-1;肝豆汤 II 号

The study on the mechanism of anti-fibrosis with Gan Dou Tang II in the treatment of patients with Wilson's disease

Xue Benchun, Yang Renmin, Hu Jiyuan, et al

Institute of Neurology, Affiliated Hospital, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061

【Abstract】 Objective To observe the influence of Gan Dou Tang II (GDT-II) on serum MMP-1 (matrix metalloproteinase-1), TIMP-1 (tissue inhibitors of metalloproteinase-1), other fibrosis indexes such as HA, LN, PCⅢ, C-IV and indexes of liver function of patients with Wilson's disease and to explore the mechanism of anti-fibrosis with GDT-II treatment. **Methods** 61 WD patients were divided into two groups: 30 patients in DMPS group and 31 patients in DMPS+GDT-II group. They received 8 courses of DMPS and DMPS+GDT-II treatment respectively. Before and after treatment, We checked serum MMP-1, TIMP-1 by ELISA, serum HA, LN, PCⅢ, C-IV by radioimmunoassay (RIA) and serum TBIL, ALT, AST, G by biochemical analysis with automatic machine. **Results** In DMPS group, all indexes of liver fibrosis and liver function had no significant decrease or increase after 8 courses of DMPS treatment, while the level of serum TIMP-1 had been markedly decreased ($P<0.05$) and the ratio of MMP-1/TIMP-1 had been significantly increased ($P<0.01$) after treatment in DMPS+GDT-II group, and the level of serum TBIL, ALT, AST, G had also been markedly decreased ($P<0.05$), but the level of serum HA, LN, PCⅢ had been slightly decreased ($P>0.05$) and serum MMP-1, C-IV had been slightly increased ($P>0.05$). **Conclusion** A short-termed decoppering treatment with DMPS have no significant influence on serum MMP-1, TIMP-1 and indexes of liver function of patients with WD, but Treating combined with GDT-II can improve liver function and significantly decrease the serum TIMP-1 level and increase the ratio of MMP-1/TIMP-1 which could strengthen collagen decomposition and have an anti-fibrosis role in the treatment of WD.

【Key words】 Wilson's disease; Matrix metalloproteinase-1; Tissue inhibitors of metalloproteinase-1; Gan Dou Tang (GDT-II)

Wilson 病(WD)又称肝豆状核变性,是一种常染色体隐性遗传性铜代谢障碍疾病。由于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^[1-2]。临床病理证实: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^[3-4]。肝硬化也是

该病病死的最主要原因之一,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 II 号抗肝纤维化治疗取得了满意的疗

效。由于肝纤维化血清指标: MMP-1、TIMP-1、HA、LN、PCⅢ、C-IV 与肝组织纤维化病理分期有较好的相关性,同时上述多指标联合检测能较好地反映肝纤维化组织的合成与降解代谢,并能判断抗纤维化治疗效果^[5-6]。因此本研究选择上述 6 个血清学指标作为治疗研究指标,通过观察我院经验方-肝豆汤Ⅱ号治疗对 WD 患者上述指标及肝功能的影响,进一步阐释该方抗肝纤维化作用机制。

临床资料

一、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半年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^[2]。

二、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 DMPS + 肝豆汤Ⅱ号组。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 年不等,平均 24.8 ± 12.6 个月。DMPS + 肝豆汤Ⅱ号组 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 年半不等,平均 23.5 ± 13.9 个月。两组性别、平均年龄、病程比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

三、方法

1. 治疗方法 DMPS 组:单纯予 DMPS ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)溶于 5% 葡萄糖 500 ml 中静滴,6 天为一疗程,共治疗 8 个疗程,2 个疗程间休息 2 天;DMPS + 肝豆汤Ⅱ号组:DMPS 驱铜 8 个疗程同时,加用肝豆汤Ⅱ号(大黄、丹参、苦参等),水煎服,每日 1 剂,共治疗 8 周。

2. 观察指标与方法 两组治疗前后分别采取外周静脉血分别测定 MMP-1、TIMP-1、HA、LN、PCⅢ、C-IV。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 测定放射免疫法(RIA),试剂盒由上海海研医学生物技术有限公司提供;血清 TBIL、ALT、AST、G 测定采用全自动生化分析仪,各指标测定均严格按照试剂盒说明书进行。

3. 统计学方法 采用 SPSS11.5 软件进行统计学处理,统计方法采用配对样本 t 检验。 $P < 0.01$ 为差异有极显著性意义, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义, $P > 0.05$ 为差异无显著性意义。

万方数据

结 果

一、DMPS 组驱铜 8 个疗程后肝纤维化指标的变化(表 1)

由表 1 所见,DMPS 组疗后血清 MMP-1、TIMP-1、HA 等指标与疗前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 DMPS 组驱铜 8 个疗程后肝纤维化指标的变化($\bar{x} \pm s$)

血清肝纤维化指标 (ng/ml)	治疗前(n=30)	治疗后(n=30)
HA	232.10 ± 62.38	229.21 ± 63.36
LN	179.00 ± 49.43	176.11 ± 51.25
PCⅢ	151.27 ± 41.17	152.94 ± 40.47
C-IV	130.28 ± 37.82	127.40 ± 40.42
MMP-1	127.74 ± 13.68	129.15 ± 16.77
TIMP-1	69.62 ± 13.97	67.97 ± 13.31
MMP-1/TIMP-1	1.98 ± 0.34	2.01 ± 0.41

二、DMPS + 肝豆汤Ⅱ号组治疗 8 个疗程后肝纤维化指标的变化(表 2)

由表 2 所见,DMPS + 肝豆汤Ⅱ号组疗后血清 HA、LN、PCⅢ均较疗前略有下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$);血清 C-IV、MMP-1 较疗前略有增高,差异亦无统计学意义($P > 0.05$);而 TIMP-1 较疗前明显减低,具有统计学意义($P < 0.05$);并且 MMP-1/TIMP-1 较疗前明显增高,差异有极显著统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 DMPS + 肝豆汤Ⅱ号组驱铜 8 个疗程后肝纤维化指标的变化($\bar{x} \pm s$)

血清肝纤维化指标 (ng/ml)	治疗前(n=31)	治疗后(n=31)
HA	236.99 ± 66.82	227.38 ± 64.19
LN	174.27 ± 50.42	169.24 ± 48.37
PCⅢ	148.31 ± 40.34	144.77 ± 38.52
C-IV	128.36 ± 57.75	132.79 ± 58.16
MMP-1	129.85 ± 15.32	137.23 ± 21.07
TIMP-1	67.62 ± 18.07	59.27 ± 12.89* Δ
MMP-1/TIMP-1	2.04 ± 0.50	2.43 ± 0.67** Δ

注:*与本组治疗前比较 $P < 0.05$,**与本组治疗前比较 $P < 0.01$; Δ 与 DMPS 组治疗后比较 $P < 0.01$ 。

三、DMPS 组及 DMPS + 肝豆汤Ⅱ号组治疗前后肝功能变化(表 3)

由表 3 所见,DMPS 组疗后肝功能指标:TBIL、ALT、AST 较疗前略有下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$);DMPS + 肝豆汤Ⅱ号组疗后肝功能各指标均较疗前明显下降,差异具有显著统计学意义($P < 0.05$),

并且 DMPS + 肝豆汤 II 号组疗后肝功能各指标较 DMPS 组疗后明显下降,差异亦具有显著统计学意义 ($P < 0.05$)。

表3 DMPS组及DMPS+肝豆汤II号组治疗

肝功能指标	前后肝功能变化($\bar{x} \pm s$)			
	DMPS组(n=30)		DMPS+肝豆汤II号组(n=31)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
TBIL($\mu\text{mol/L}$)	49.94 \pm 32.10	46.13 \pm 33.98	52.40 \pm 36.86	38.45 \pm 31.33**
ALT(IU/L)	58.24 \pm 26.18	52.68 \pm 27.35	57.25 \pm 30.22	32.36 \pm 20.10**
AST(IU/L)	52.65 \pm 31.32	50.46 \pm 29.98	55.45 \pm 28.73	40.12 \pm 19.71**
G(g/L)	35.20 \pm 6.25	36.45 \pm 7.03	34.80 \pm 7.65	32.68 \pm 7.03*

注: *与治疗前比较 $P < 0.05$; #与 DMPS 组治疗后比较 $P < 0.05$

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合过程^[7]。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经胆道排泄困难等,造成游离铜在肝组织内缓慢蓄积,并作为独立的刺激因子激活肝脏星形细胞,此外肝细胞炎症、坏死亦可激活肝脏星形细胞,导致肝损伤修复时ECM的合成与降解不平衡,即ECM合成过多和ECM降解不足,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^[2]。

从理论上讲,驱铜治疗可以逆转WD肝纤维化及早期肝硬化,并能改善其肝纤维化血清学指标及肝功能。但是本研究及本院以往的研究结果均证明^[8]: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,同时血清MMP-1、MMP-1/TIMP-1等反映肝纤维降解的指标也没有明显增高,并且肝功能指标也不能明显改善,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。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。

本研究还发现:肝豆汤II号联合DMPS驱铜治疗可以在短期内明显降低血清TIMP-1水平,并能显著提高血清MMP-1/TIMP-1的比值。肝豆汤II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,采用大黄、丹参、苦参、黄芪、泽泻等为主药的中医方剂治疗。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^[9]。本研究也证实:肝豆汤II号联合DMPS驱铜治疗能够在短期内显著改善反映WD患者肝纤维化组织中ECM降解的指标,并且能够改善肝功能。目前文献已阐明:在ECM降解过程中起关键作用的酶是基质金属蛋白酶(MMPs),其中MMP-1为MMPs基本型,可特异性地降解肝纤维化组织中的I、Ⅲ型胶原,而MMP-1的活性主要受体内TIMP-1抑制,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^[10]。近年来,随着对ECM降解机制研究的深入,认为:ECM降解减少是导致WD发生肝纤维化或肝硬化的主要机制,而肝纤维化进展的实质是由于肝纤维化组织内TIMP-1的表达逐渐增强,TIMP-1通过与MMP-1特异性结合,使MMP-1活性逐渐下降,从而抑制了I、Ⅲ型胶原等ECM的降解,导致ECM在肝脏内的过度沉积,最终发展为肝硬化,因此随着肝纤维化的进展,肝组织内TIMP-1的表达逐渐增强,而MMP-1的表达逐渐减弱^[11,12]。进一步研究表明:血清MMP-1、TIMP-1的水平与肝组织内MMP-1、TIMP-1表达水平是一致的,即随着肝纤维化程度的加重,血清MMP-1水平逐渐下降,而血清TIMP-1水平逐渐增高。此外通过测定血清MMP-1/TIMP-1的比值可以大致了解体内TIMP-1对MMP-1的抑制程度,进而可间接反映MMP-1对肝纤维化组织中ECM的降解活性,即血清MMP-1/TIMP-1的比值愈高,体内MMP-1对ECM的降解活性愈高;血清MMP-1/TIMP-1的比值愈低,体内MMP-1对ECM的降解活性愈低。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^[13,14]。本研究表明:肝豆汤II号联合DMPS短期驱铜治疗后血清TIMP-1水平便可显著降低,并且血清MMP-1/TIMP-1的比值明显增高,同时血清TBIL、ALT、G等肝功能指标也明显降低,但血清HA、LN、PCⅢ等反映肝纤维合成的指标并

Sono CT 和 XRES 技术在乳腺肿瘤显像中的临床应用

隋秀芳 康冰飞 李美光 叶显俊

【摘要】 目的 评估 Sono CT 和 XRES 技术在乳腺肿瘤诊断中的临床应用价值。方法 应用 Sono CT 和 XRES 技术和普通超声成像对 38 例经手术病理证实的乳腺肿瘤患者的声像图进行对比分析。结果 应用 Sono CT 和 XRES 技术观察乳腺肿瘤,使肿瘤边界、内部细微结构及层次显示清晰,侧壁回声失落消失,伪像消失。结论 Sono CT 和 XRES 技术联合应用,可提高乳腺肿瘤图像质量,增加乳腺疾病的检出率。

【关键词】 Sono CT;XRES;乳腺肿瘤

Clinical application of Sono CT and XRES in diagnosis of breast tumors

Sui Xiufang, Kang Binfei, Li Meiguang, et al

Anhui Provincial Hospital, Hefei 230001

【Abstract】 Objective To assess the application of sono CT and Extreme resolution (XRES) in the diagnosis of breast tumors. **Methods** Thirty-eight patients with breast tumors confirmed by pathology were examined by Sono CT and XRES and the images were compared. **Results** With the technique of Sono CT and XRES to observe breast tumors, it can not only make the lateral boundaries of solid tumors, internal fine structure and layered structure display clearly, but also make the acoustic shadows

作者单位: 230001 合肥 安徽省立医院超声科

没有明显下降,因此推测肝豆汤 II 号抗 WD 肝纤维化作用机制可能是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,间接提高 MMP-1 对 ECM 的降解活性,促进肝纤维化组织中 ECM 的降解,并逆转肝纤维化的发展,促进肝功能恢复。

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. 第 1 版. 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,张彬林,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,陈灏伟. 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 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
- 9 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
- 10 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
- 11 杨长青,胡国龄,谭德明,等. 实现性肝纤维化时 MMP-1、TIMP-1 的表达与 I、III 型胶原含量变化的关系. 临床肝胆病杂志,2000;16(4):222~224
- 12 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. 中华肝脏病杂志,2004;12(10):612~615
- 13 Murawaki Y, Ikuta Y, Kawasaki H. Serum matrix metalloproteinases in patient with chronic viral hepatitis. J Gastroenterol Hepatol, 1999;14(2):138~145
- 14 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

(2007-02-12 收稿 2007-03-18 修回)