

甘草甜素治疗急性和慢性病毒性肝炎 的疗效观察及实验研究

湖南医学院第二附属医院传染病学教研组 苏先狮 陈惠明 王立庄 江传发 刘建辉
山西医学院肝病研究组 赵敏崎 马学惠 赵元昌 韩德五

近年来,我们在用三草汤(甘草、白花蛇舌草、夏枯草)治疗急性和慢性病毒性肝炎获得疗效⁽¹⁾的基础上,对该方进行了药物筛选研究。现将其有效成分甘草甜素的临床观察及动物实验结果报道如下。

临床观察

一、病例选择及分组

本组收治的80例急性和慢性病毒性肝炎,均符合1978年全国病毒性肝炎会议诊断标准。随机分成二组,甘草甜素治疗组(以下简称甘草甜素组)和西药治疗对照组(以下简称对照组)各40例。甘草甜素组中急性肝炎20例,男12例,女8例,年龄14~61岁,平均31.2岁,发病至就诊时间平均7天;慢性肝炎20例,男16例,女4例,年龄17~54岁,平均27.9岁,病程6个月~3年。对照组中急性肝炎20例,男15例,女5例,年龄15~48岁,平均22.9岁,发病至就诊时间平均6天;慢性肝炎20例,男19例,女1例,年龄21~57岁,平均34.2岁,病程6个月~3年。

二、药物制备

甘草甜素由本院药剂科自制供应。取甘草切片,水煎浓缩,加浓硫酸沉淀出甘草酸粗制品,再用丙酮溶解,加20%氢氧化钾溶液,使其成甘草酸三钾盐,再用冰醋酸回流溶解,放在0~10°C内析出甘草酸单钾盐,用冰醋酸无水乙醇洗涤,真空干燥后得黄色粉末,即为甘草甜素,分装胶囊供口服用。每粒相当于甘草生药7.5克。

三、治疗方案和观察方法

甘草甜素组每次口服甘草甜素胶囊1粒,

每天2次;另加服维生素C 0.2克、维生素K 8毫克、维生素E 20毫克,每天3次。对照组每次肌肉注射肌苷100毫克,每天1次;肌注聚肌胞2毫克,每周2次;口服维生素C、K、E,其用量及服法同上。两组疗程相同,急性肝炎30天,慢性肝炎90天。急性肝炎患者治疗前后各检验肝功能和免疫球蛋白一次,慢性肝炎患者则每月检验一次。所有病例均在治疗前后各检测乙型肝炎表面抗原和e抗原一次。

四、治疗结果

根据肝功能的改善程度判定疗效。临床近期痊愈:各项肝功能检查均恢复正常;显效:SGPT<200单位(金氏法)、TTT<10单位、ZnTT<14单位;好转:SGPT>200单位、TTT>10单位、ZnTT>14单位;无效:肝功能较治疗前未见好转或更差者。两组的治疗结果表明,不论急性肝炎或慢性肝炎,均以甘草甜素组的疗效为高(表1),在肝功能的改善和免疫球蛋白的恢复方面,两组比较亦均以甘草甜素组者为优(表2)。

表1 甘草甜素组和对照组的疗效比较

疗 效	急 性 肝 炎		慢 性 肝 炎	
	甘草甜素组 (20例)	对照组 (20例)	甘草甜素组 (20例)	对照组 (20例)
近期痊愈	17(85.0)	7(35.0)	15(75.0)	2(10.0)
显 效	3(15.0)	1(5.0)	2(10.0)	0
好 转	0	7(35.0)	1(5.0)	5(25.0)
无 效	0	5(25.0)	2(10.0)	13(65.0)
P 值	$P<0.001(\chi^2=17.2)$		$P<0.001(\chi^2=22.7)$	

注:表内数字为例数(%)

如表3所示,甘草甜素组治疗前乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性、e抗原阳性者急性肝

表 2 甘草甜素组和对照组治疗前后实验室检查结果比较

项 目	急 性 肝 炎				慢 性 肝 炎			
	甘草甜素组(20例)		对照组(20例)		甘草甜素组(20例)		对照组(20例)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
黄疸指数(单位)	37.7±3.3	6.5±3.4***	30.4±4.2	7.7±5.0**	27.4±5.0	4.0±5.5**	29.4±2.9	25.2±3.0
TTT (单位)	10.9±2.1	3.8±2.3*	13.7±6.0	17.5±6.7	17.5±4.4	2.9±4.2*	13.4±4.0	15.3±3.8
ZnTT (单位)	15.1±3.0	2.8±2.0**	16.0±2.8	10.8±3.0	17.5±4.0	2.5±5.0*	17.8±5.2	16.6±4.9
SGPT (单位)	569.3±4.8	80.2±3.7***	511.4±1.2	105.3±1.8***	216.5±4.7	20.3±4.0***	344.4±3.9	285.3±4.0***
IgG (毫克%)	2262.1±7.8	1637.3±5.0***	2164.9±2.8	2001.0±4.0***	2132.6±4.2	1307.1±5.1***	1932.0±1.0	2010.3±1.5***
IgA (毫克%)	281.0±5.1	190.6±5.2**	320.1±3.0	298.1±1.0**	219.3±5.0	108.5±4.0**	229.2±5.4	218.5±4.0
IgM (毫克%)	361.1±3.6	77.3±4.0***	219.2±2.9	199.0±7.0*	223.3±1.0	145.4±7.9***	197.8±1.0	200.0±2.0

注:表内数字为均值±标准误。* 与治疗前比较 $P<0.05$; ** 与治疗前比较 $P<0.01$; *** 与治疗前比较 $P<0.001$

炎 20 例中分别有 3 例、1 例, 慢性肝炎 20 例中分别有 17 例、10 例; 治疗后 HBsAg 转阴、e 抗原转阴者急性肝炎分别为 2 例、1 例, 慢性肝炎分别为 8 例、5 例。对照组治疗前 HBsAg 阳性、e 抗原阳性者急性肝炎 20 例中分别有 5 例、2 例, 慢性肝炎 20 例中分别有 17 例、14 例; 治疗后急性肝炎和慢性肝炎患者 HBsAg、e 抗原均无一例转阴。上述结果表明, 甘草甜素可使急性和慢性肝炎的乙型肝炎表面抗原及 e 抗原大部分转阴。

表 3 甘草甜素组和对照组治疗前后 HBsAg、e 抗原转阴情况比较

分 组		急性肝炎				慢性肝炎			
		HBsAg		e 抗原		HBsAg		e 抗原	
		+	-	+	-	+	-	+	-
甘 草 甜素组	治前	3	17	1	19	17	3	10	10
	治后	1	19	0	20	9	11	5	15
对照组	治前	5	15	2	18	17	3	14	6
	治后	5	15	2	18	17	3	14	6

实 验 研 究

一、甘草甜素对大白鼠急性实验性肝炎的作用

取健康大白鼠 28 只, 体重 150~200 克, 分为三组, 正常组 8 只, 病理组、给药组各 10

只。实验第 1、5 天, 病理组与给药组动物均皮下注射四氯化碳 0.5 毫升/100 克体重。给药组自实验第 2 天起皮下注射甘草甜素 30 毫克, 每天 1 次; 病理组给予等容积生理盐水。实验第 8 天断头处死动物。取部分肝脏制备肝匀浆, 测定其甘油三酯含量; 其余肝脏固定后, 用 HE 和苏丹Ⅲ染色作病理组织学检查, 观察指标同前文⁽²⁾。取动物血清测谷丙转氨酶活力, 并用反向血凝法测血清胎甲球蛋白(AFP)。

实验结果见表 4、5。病理组织学的观察结果表明, 肝细胞坏死、气球样变和脂肪变性程度, 给药组均较病理组减轻。给药组的血清谷丙转氨酶活力和肝匀浆甘油三酯含量均较病理组明显降低(方差分析, P 值均 <0.01)。给药组胎甲球蛋白 1:10 全部(10 只)阳性, 1:100 阳性 2 只, 而病理组 10 只动物中胎甲球蛋白 1:10 阳性者仅 2 只, 两组比较有显著性差异($P<0.001$)。前文⁽³⁾曾证实肝脏再生能力与血清胎甲球蛋白含量有关, 提示甘草甜素具有促进肝细胞再生的作用。

二、甘草甜素对动物脂肪肝的影响

动物选择、体重、分组同上。给药组和病理组动物均饲高脂肪低蛋白食物(80% 玉米面, 20% 猪油, 0.5% 胆固醇, 30% 乙醇饮料), 实验第 1 天皮下注射四氯化碳 0.5 毫升/100 克体重, 以后每隔 3 天注射四氯化碳(40%

表4 甘草甜素对急性肝炎动物的肝脏病理组织学改变的影响

组别	动物数	细胞坏死				疏松、气球样变				脂肪变性			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
病理组	10	1	4	4	1	1	5	3	1	0	1	6	3
给药组	10	5	5	0	0	3	6	1	0	0	4	6	0

表5 甘草甜素对急性肝炎动物的血清谷丙转氨酶活力及肝匀浆甘油三酯含量的影响

组别	谷丙转氨酶(单位)	甘油三酯(毫克/克湿重)
病理组	355.7±76.2(10)	81.80±6.84(10)
给药组	113.6±20.8(10)*	54.23±7.23(10)*
正常组	143.8±13.3(8)	37.18±3.54(8)

注:表内数字为均值±标准误(动物数),表6~8同

* 与病理组比较 $P<0.01$

棉子油溶液) 0.3 毫升/100 克体重, 直到实验第2周末。给药组于实验第2天起给药, 其剂量和用法同上。实验第2周末处死动物, 取部分肝脏制备匀浆, 测定其甘油三酯含量。其余肝脏固定后作 HE、苏丹Ⅲ染色镜检, 并取动物血清测 β -脂蛋白含量。

肝脏镜检所见, 其脂肪变性程度以病理组为最严重, 7 只大鼠全部形成脂肪肝(+++); 给药组 7 只大鼠中, 脂肪变性(+)2 只, (++)4 只, 形成脂肪肝(+++)者仅 1 只, 两组比较有显著性差异($\chi^2=10.5$, $P<0.05$)。如表6所示, 与病理组相比较, 给药组的肝匀浆甘油三酯含量明显降低(方差分析, $P<0.01$), 而血清 β -脂蛋白含量明显增高(方差分析, $P<0.01$), 提示甘草甜素具有趋脂作用⁽⁴⁾。

三、甘草甜素对防止动物肝硬化的作用

实验动物为体重 230~280 克的健康大白鼠, 分组同前。肝硬化模型采用复合致病因子方法复制⁽⁶⁾。给药组和病理组动物均饲玉米面(前两周加猪油 20%), 混以 0.5% 胆固醇、30% 乙醇为饮料, 实验第1天起, 每天皮下注射四氯化碳 0.5 毫升/100 克体重, 直至实验

表6 甘草甜素对脂肪肝动物肝匀浆甘油三酯含量及血清 β -脂蛋白含量的影响

组别	甘油三酯(毫克/克湿重)	β -脂蛋白(毫克%)
病理组	149.43±18.07(7)	470.6±54.9(7)
给药组	83.33±16.37(7)*	943.6±126.8(7)*
正常组	20.75±3.93(8)	280.6±15.9(8)

* 与病理组比较 $P<0.01$

第6周末。给药组于实验第2天起, 每天皮下注射甘草甜素 30 毫克。实验第6周末处死动物, 取部分肝脏左叶, 固定后作 HE 染色及胶原纤维染色(VG), 观察纤维增生程度, 观察指标同前文⁽⁵⁾。其余肝脏留作羟脯氨酸测定, 以求胶原蛋白含量。另取大白鼠血清作蛋白电泳分析。

实验结果表明, 病理组 10 只大鼠中, 肝组织纤维增生(++)3 只, 形成肝硬化(+++)者7 只; 给药组 11 只大鼠中, 肝纤维增生(-)5 只, (+)2 只, (++)3 只, 仅 1 只形成肝硬化(+++)。两组比较有显著性差异($\chi^2=11.48$, $P<0.01$)。表7显示, 肝脏胶原蛋白含量给药组低于病理组(方差分析, $P<0.05$), 提示甘草甜素可抑制肝脏纤维组织的增生, 降低肝硬化的发生率; 血清 γ -球蛋白含量给药组明显低于病理组, 提示甘草甜素对减轻肝脏间质的炎症反应明显。

表7 甘草甜素对肝硬化动物的肝脏胶原蛋白和血清 γ -球蛋白含量的影响

组别	胶原蛋白(毫克/克肝重)	γ -球蛋白(%)
病理组	33.5±5.6(10)	22.2±1.1(8)
给药组	21.5±2.2(11)*	14.4±0.7(9)**
正常组	15.1±2.1(8)	15.5±1.1(8)

* 与病理组比 $P<0.05$; ** 与病理组比 $P<0.01$

四、甘草甜素对肝硬化形成后纤维重吸收的作用

肝硬化的动物模型制备同上。待实验第42天肝硬化形成后, 给药组开始每天皮下注射甘草甜素 30 毫克, 持续3周, 于实验第9周末处死动物, 取肝脏作病理组织学观察, 并测定

其羟脯氨酸,以求胶原蛋白含量。给药组在给药前及给药2周后收集16小时(下午4时到次日8时)尿作尿羟脯氨酸含量测定,并与另两组在同一时间的检测相比较。

实验结果,给药组5只大鼠肝组织纤维增生(+)1只,(++)1只,(+++)3只;病理组7只大鼠肝组织纤维增生(++)2只,(+++)5只。两组比较无明显差异。各组肝脏胶原蛋白和尿羟脯氨酸含量测定见表8,结果显示,给药组的肝脏胶原蛋白含量、尿羟脯氨酸含量与病理组相比较均无明显差异,表明甘草甜素无促进胶原蛋白降解与胶原重吸收的作用。

表8 甘草甜素对肝硬化形成后肝脏胶原蛋白含量和尿羟脯氨酸含量的影响

组 别	胶原蛋白 (毫克/克肝重)	尿羟脯氨酸(毫微克/毫升)	
		治疗前	治疗后
病理组	19.2±1.4(6)	7.1±0.9(6)	2.7±0.7(6)
治疗组	18.2±2.3(7)	4.7±0.3(6)	3.0±0.4(6)
正常组	9.8±1.1(5)	6.3±1.3(6)	6.0±1.0(6)

讨 论

一、本组用甘草甜素治疗急性和慢性病毒性肝炎,与西药对照组相比较,具有明显缩短疗程、恢复肝功能、降低谷丙转氨酶活力和使乙型肝炎表面抗原及e抗原阳性病例大部分转阴的作用。对实验性急性和慢性肝炎动物在组织学上具有减轻病理损害和较快修复坏死组织的作用,且可使SGPT活力明显减低、 β -脂蛋白含量增加、肝内甘油三酯蓄积减少,与临床观察结果相符。

二、目前认为^(6,7),肝硬化主要是由于肝内弥漫性纤维增生所致,而纤维增生的发生,与肝细胞的变性、坏死有关。肝细胞坏死几乎是慢性肝炎和肝硬化的基本因素,若坏死不能迅速修复,则纤维组织增生活跃,互相聚集,形成胶原纤维⁽⁸⁾。据报道,肝炎病变时淋巴细胞和吞噬细胞释放的不可透析物质,可刺激成纤维细胞合成胶原,加之炎症病变又使肝细胞再生能力低下⁽⁸⁾,从而易使病变转为慢性,形

成肝硬化。实验证明,甘草甜素既可使肝细胞的脂变、坏死明显减轻,又可减少炎症的浸润。临床观察到患者肝功能好转,谷丙转氨酶活力降低,免疫球蛋白IgG、IgA、IgM恢复,AFP检出率增高,与文献报道相符⁽⁹⁾。此点可能为甘草甜素治疗急性和慢性肝炎的基础。

现已确认,甘草甜素具有糖皮质激素的作用。糖皮质激素可直接降低脯氨酰羟化酶的活力,抑制胶原的合成⁽¹⁰⁾;甘草甜素可抑制肝内赖氨酰氧化酶(单胺氧化酶)的活性,从而影响胶原的合成⁽¹¹⁾。甘草甜素抑制胶原的合成可能与以上因素有关。

三、目前国外常用糖皮质激素和D-青霉胺治疗慢性活动性肝炎和肝硬化。这两种药物均具有非特异性抗炎及抑制纤维增生的作用。糖皮质激素与D-青霉胺分别通过抑制脯氨酰羟化酶与赖氨酰氧化酶活性来抑制胶原蛋白的合成,但二者较长期使用副作用颇多,而且甚为严重⁽⁷⁾。甘草甜素有类似糖皮质激素和D-青霉胺的作用,而无副作用,为治疗急性和慢性肝炎、防止肝硬化发生的一种较为理想的药物。至于其对乙型肝炎表面抗原的转阴机理,还有待进一步探讨。

四、促进肝纤维重吸收是治疗肝硬化的关键。现已证实,肝硬化形成后,在胶原酶的作用下,胶原纤维可被重吸收⁽¹²⁾。本组动物实验,甘草甜素治疗后与对照组比较,组织学改变不显著,尿羟脯氨酸含量亦无明显差异,可见甘草甜素无促进纤维重吸收作用。

参 考 文 献

- (1) 苏先狮等: 中医杂志 21(4):22, 1980.
- (2) 韩德五等: 中医杂志(1):45, 1975.
- (3) 韩德五等: 中医杂志 22(3):57, 1981.
- (4) 齐治家: 国外医学中医中药分册(6):279, 1980.
- (5) 韩德五等: 山西医药杂志(10):58, 1976.
- (6) Popper H, et al: Am J Path 87:228, 1977.
- (7) Rojkind M, et al: Gastroenterology 76:849, 1979.
- (8) 韩德五等: 肝功能不全. 81、291页, 人民卫生出版社, 1981.
- (9) Simonk, et al: Orvos Hetilap 115:843, 1974.
- (10) Cutronco KR, et al: Mol Pharm 11:632, 1975.
- (11) 天林等: 国外医学中医中药分册(3):54, 1981.
- (12) 韩德五等: 肝功能不全. 33页, 人民卫生出版社, 1981.