

中医药改善乙型肝炎肝硬化血管重塑研究思路

赵志敏^{1,2}, 李正鑫², 朱亭亭², 刘成海^{1,2,3*}

1. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海市浦东新区张衡路 528 号, 201203; 2. 上海市中医临床重点实验室; 3. 上海中医健康服务协同创新中心

摘要 乙型肝炎肝硬化发展过程中肝脏血管稳态失衡、血管重塑是影响疾病进展和逆转的重要病理改变, 且血管重塑分子机制复杂。乙型肝炎肝硬化是中医药治疗优势病种, 中药具有多层次、多靶点综合治疗的特点适合血管重塑的整体调节。因此, 需利用多学科交叉及系统生物学的方法和策略来探讨中医药改善乙型肝炎肝硬化血管重塑的可能作用机制, 从而发现药物治疗的关键靶点。

关键词 乙型肝炎; 肝硬化; 血管重塑; 中医药疗法; 血管稳态

肝硬化是导致人类因疾病死亡主要病因之一, 肝脏血管损伤、修复、重塑的病理改变贯穿肝硬化发展始终^[1]。在我国引起肝硬化的主要病因是乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV), 而目前祛除病因、抗肝纤维化等治疗方式尚不能完全解决肝硬化伴随的肝脏血管结构和功能改变。血管重构、血管活性物质调控, 肝内血管阻力增高及纤维化的免疫调节等因素均可导致疾病继续进展, 甚至导致肝癌^[2]。我国近 30 年的实践证明, 中医药可有效改善早期肝硬化, 具有逆转肝组织纤维化的综合优势。但是乙型肝炎肝硬化疾病机制复杂, 影响肝脏血管重塑、疾病逆转的病理机制是什么? 中药复杂成分是如何调控并实现疾病逆转的? 对这些问题的深入探索, 不仅有助于阐明乙型肝炎肝硬化血管重塑的病理机制, 发现药物作用特点, 也有助于了解效应目标人群特征, 促进中西医结合临床方案的推广应用, 促进中药配伍理论与治疗慢性肝病应用基础的创新。

1 乙型肝炎肝硬化血管病理改变特点

肝硬化在肝组织病理上的主要表现为广泛性肝细胞变性坏死、结节性再生、肝脏弥漫性纤维化伴肝小叶结构破坏和假小叶形成, 肝纤维化发展的同时, 伴有显著的、非正常的血管增殖, 肝内门静

脉、肝静脉和肝动脉三个血管系之间失去正常关系, 出现交通吻合支等^[3], 这不仅是形成门静脉高压的病理基础, 而且是加重肝细胞的营养障碍、促进肝硬化发展的重要机制。慢性乙型肝炎导致的肝损伤以免疫机制介导为主, 汇管区炎细胞较多, 免疫反应活跃, 引起纤维增生, 血管炎细胞浸润明显, 肝血管炎症、增生与肝组织病理学的炎症、坏死和纤维化相伴发生, 血管病变较重者肝组织分级和分期亦较高, 在纤维化等级较高的硬化存在血管破坏和阻塞的病理改变^[4]。一方面, 血管损伤受炎症介导的直接损伤作用; 另一方面, 持续的肝细胞破坏和胶原沉积, 肝脏萎缩比例失调, 形成多样的结节被宽的纤维包绕, 这种结构干扰了肝内血液循环、形成的异常血流剪切力使血管床受损, 启动内皮细胞的增殖及管周的胶原沉积以修复加固管腔结构。因此, 肝硬化时的血管特点外形上表现为比例失调, 内部压力改变; 病理结构上表现为肝窦毛细血管化与肝小叶内以及汇管区纤维化; 功能上可以表现为肝功能减退、门静脉高压等。

2 乙型肝炎肝硬化血管重塑分子机制复杂

肝脏纤维化的发生发展受多基因、多因素影响, 存在多种信号通路调控^[5]。有文献报道, 与血管损伤、活化、增殖、功能紊乱等相关且影响纤维化逆转的通路有炎症相关的核因子 κB (NF- κB)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3)

基金项目: 国家自然科学基金 (81473404, 81730109); 国家科技重大专项 (2014ZX10005001)

* 通讯作者: chenghailiu@hotmail.com, (021) 20256521

炎症小体通路^[8]，缺氧相关的缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 通路^[9]，血管内皮细胞功能相关的一氧化氮(NO) 通路^[8]，细胞存活和凋亡信号通路^[8]，血管新生相关的血管内皮生长因子 (VEGF)、血小板衍生因子 (PDGF) 通路^[10-11]，促进星状细胞活化的转化生长因子 β (TGF- β) 通路^[12]，促进肝窦毛细血管化的 Hedgehog 通路^[13]，血管生成素/Tie 通路、法尼酯 X 受体 (FXR) 相关通路等^[14]。通路之间存在着交叉、串话和相互作用，加之疾病状态下的激素、体液因子等影响，发病机制从整体来讲是一个相互影响的巨型网络。肝脏疾病血管病理改变是一个包括门静脉高压、内脏淤血、异常血管生成和分流、肝肺综合征和全身高动力循环等在内的综合体系，而血管生成和血管活性物质如 NO 等的表达改变、内皮功能障碍、神经激素失调和全身炎症状态在调节肝硬化体内病理失衡和异常血管生成反应方面发挥着不同的作用^[15]。既往研究^[16]发现，采用索拉非尼等抗血管新生药物可显著改善实验性肝纤维化；抑制血管生成、改善肝窦重塑、纠正内皮功能紊乱、抗凝抑栓等治疗可降低门脉高压，提示调节肝脏血管病理是防治肝硬化及其并发症的重要治疗策略。但是肝纤维化不同阶段、肝脏血管不同区域、内皮细胞损伤活化的不同状态对抑制血管生成治疗存在应答差异。Liu 等^[17]利用体现肝窦内皮细胞 (LSEC) 和人肝星状细胞 (HSC) 相互作用的纤维化微环境研究血管病理机制，发现抗血管生成药物对体外及小鼠肝纤维化模型的早期肝纤维化有效，但不能逆转晚期肝纤维化。Xu 等^[18]以肝脏大血管和肝窦两个不同的血管系统为切入点，发现在动物模型纤维化减轻的同时伴随着门管区血管生成的增加和肝窦毛细血管化的减少。这些特殊条件对药物干预应答的差异性体现出肝脏血管病理机制的复杂性。

3 中药多靶点综合治疗的特点适合乙型肝炎肝硬化血管重塑的整体调节

乙型肝炎肝硬化是中医药治疗的优势病种，根据其临床表现和病变特点多属于中医学“癥积”范畴，此外，还涉及“黄疸”“胁痛”等。肝硬化的基本病机为正虚血瘀，益气养阴、活血化瘀是其基本治法^[19]。研究^[20]结果表明，中西药联用、基本病机结合辨证论治的中医药治疗可有效改善乙型肝炎肝硬化，降低终点事件发生，提高患者生存质量。我们前期采用随机双盲安慰剂对照的设计，纳

入未经抗病毒治疗的 HBV-DNA 阳性的乙型肝炎肝硬化初治患者，在恩替卡韦抗病毒基础上联用抗肝纤维化的扶正化瘀片治疗 48 周，以治疗前后两次肝组织病理活检为主要疗效判定指标，结果显示，联合用药可显著提高患者肝组织纤维化逆转率^[21]。基础研究^[22]发现，扶正化瘀方逆转肝纤维化/肝硬化的机制有抑制 HSC 活化、保护肝细胞过氧化损伤与凋亡、调节肝脏细胞外基质代谢与血管新生等多个方面的作用。并已明确扶正化瘀方调节血管病理抗肝纤维化的活性成分，同时形成新的组分复方，组分复方可显著减少肝组织胶原沉积，减少肝脏微血管数量，下调血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2) 蛋白表达，具有与原方相似的功效^[23]。中药具有多层次、多靶点综合作用的特点，对乙型肝炎肝硬化血管重塑的作用也是多方面的，适合这一复杂病理改变的整体调节。

4 临床病理联合系统生物学解析疾病与药物相互关系

《灵枢·外揣》云“夫日月之明，不失其影，水镜之察，不失其形，鼓响之应，不后其声，动摇则应和，尽得其情”；“故远者司外揣内，近者司内揣外，是谓阴阳之极，天地之盖”。从机体是一个有机整体、内外相应来认识，肝脏组织病理改变必然有体现于外的征象，外在环境改变必然因果于特定脏器病理。而内外是一个相对概念，现代医学病理学、系统生物学和药理学提供了研究二者关系的方法。

肝活检组织病理评价是肝硬化诊断的“金标准”，常用的评分系统有 Knodell、Metavir、Ishak、Laennec 及根据慢性乙型肝炎抗病毒治疗后肝纤维化/肝硬化的动态变化制定的病理定性标准 (P-I-R 分类)^[24]等，主要由病理专家阅片判定。由于传统病理评价及半定量分析可能存在识别精度、灵敏度和可重复性等方面的问题，基于数字成像与定量分析的数字病理分析技术对此提供了有益补充。例如，利用二次谐波/双光子激发荧光 (SHG/TPEF) 技术原理，通过对非染色组织进行数字成像和分析，可对肝组织中胶原数量和结构定量^[25]；根据胶原纤维化 SHG 信号与周围肝实质 TPEF 的位置关系，可将整个肝组织识别为汇管区、中央静脉区、肝窦区^[26]。应用 SHG/TPEF 成像体系识别血管和肝硬化结节，完善肝硬化组织学参数能够更好地复现 Ishak 纤维化分期系统^[26]。样本无需染色处理，

对肝穿组织大小和切片厚度要求不高, 适合高通量检测, 目前得到国际肝脏病理专家的大力推荐^[2]。

蛋白质组学是研究生物样本中所有蛋白质的科学, 而代谢组学是通过研究生物体中一套完整小分子 (小于 1500 道尔顿), 致力于理解正常和疾病状态下生物过程的科学。在疾病或药物干预下, 内源性代谢物质会发生与生理和病理状态相关的规律性改变, 蛋白组变化会反映在小分子代谢物的轮廓谱上, 这些变化可以通过分析蛋白质组或者代谢组的组成来衡量, 目前技术手段已较为成熟。乙型肝炎肝硬化患者血液样本检测操作简便、可行性强, 可通过蛋白质组与代谢组联合分析的方法, 结合患者治疗前后肝纤维化血管病理变化, 获得特异度较高的差异蛋白和代谢物信息, 通过观察药物治疗前后的变化, 采用疾病网络-关键节点-药物靶标的自上而下分析和药物干预-关键节点变化-病理逆转的自下而上分析, 构建乙型肝炎肝硬化患者血管重塑的生物分子网络, 对疾病诊断、阐明中药作用机制以及指导临床治疗和预后管理具有重要意义, 有助于推动建立主动、精准干预血管损伤修复的新模式。

5 讨论

乙型肝炎肝硬化发展过程中肝脏血管稳态失衡、血管重塑是影响疾病进展和逆转的重要病理改变, 而该血管病理改变的动态复杂性与针对血管治疗的单一靶点、单向作用的局限性之间的矛盾是制约乙型肝炎肝硬化治疗和新药研发的关键。基于此提出如下 3 个研究思路: 1) 临床研究与基础研究相结合, 基于中药已确证的逆转乙型肝炎肝硬化临床疗效, 定标乙型肝炎肝硬化肝组织纤维化和血管的临床病理, 采用数字病理、蛋白质组学、代谢组学联合的分析方法, 以局部肝脏病理与整体生物信息学相结合的思路, 明确疾病分子网络与关键节点之间的关系, 从而揭示肝硬化肝血管重塑异质性和复杂性的内在机制。2) 在分析思路, 可采用自上而下 (疾病网络-关键节点-药物靶标) 和自下而上 (药物干预-关键节点变化-病理逆转) 相互印证的研究思路, 每个环节中均引入药物干预, 使疾病机理与药物作用机制研究相辅相成, 在构建乙型肝炎肝硬化血管重构调控的关键信号通路和网络模式的同时揭示中药作用机制。3) 利用活性成分明确的中药复方来源组分复方, 基于中药方剂配伍理论, 研究成分配伍通过关键节点 (如内皮细胞

的损伤或活化) 实现对血管内皮细胞损伤修复的主动、精准调控, 平衡乙型肝炎肝硬化肝血管稳态, 为临床精准治疗提供思路。

参考文献

- [1] TSOCHATZIS EA, BOSCH J, BURROUGHS AK. Liver cirrhosis [J]. Lancet, 2014, 383(9930): 1749-1761.
- [2] HERNANDEZ-GEA V, FRIEDMAN SL. Pathogenesis of liver fibrosis [J]. Ann Rev Pathol, 2011, 6: 425-456. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130246.
- [3] BURT AD, PORTMANN BC, FERREL L. MacSween's pathology of the liver [M]. 6th ed. Philadelphia Churchill Livingstone: Elsevier, 2012: 54-77.
- [4] 刘健虎, 严家春, 马勇. 慢性肝炎肝组织内血管病变与肝纤维化及肝硬化的关系 [J]. 中华消化杂志, 1998, 18(5): 274-277.
- [5] 赵静, 成军. 肝纤维化发生信号通路的研究进展 [J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(6): 403-406.
- [6] LUEDDE T, SCHWABE RF. NF-kappaB in the liver: linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2011, 8(2): 108-118.
- [7] DENG J, HUANG Q, WANG Y, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha regulates autophagy to activate hepatic stellate cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 454(2): 328-334.
- [8] MARRONE G, RUSSO L, ROSADO E, et al. The transcription factor KLF2 mediates hepatic endothelial protection and paracrine endothelial-stellate cell deactivation induced by statins [J]. J Hepatol, 2013, 58(1): 98-103.
- [9] MIAO CG, YANG YY, HE X, et al. Wnt signaling in liver fibrosis: progress, challenges and potential directions [J]. Biochimie, 2013, 95(12): 2326-2335.
- [10] SEKI E, SCHWABE RF. Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways [J]. Hepatology, 2015, 61(3): 1066-1079.
- [11] YANG L, KWON J, POPOV Y, et al. Vascular endothelial growth factor promotes fibrosis resolution and repair in mice [J]. Gastroenterology, 2014, 146(5): 1339-1350.
- [12] FABREGAT I, MORENO-CACERES J, SANCHEZ A, et al. TGF-beta signalling and liver disease [J]. FEBS J, 2016, 283(12): 2219-2232.
- [13] CHUNG SI, MOON H, JU HL, et al. Hepatic expression of sonic hedgehog induces liver fibrosis and promotes hepatocarcinogenesis in a transgenic mouse model [J]. J Hepatol, 2016, 64(3): 618-627.
- [14] ROTMAN Y, SANYAL AJ. Current and upcoming pharmacotherapy for non-alcoholic fatty liver disease [J]. Gut, 2017, 66(1): 180-190.
- [15] SHENODA B, BOSELLI J. Vascular syndromes in liver

- cirrhosis [J]. Clin J Gastroenterol, 2019, 12(5): 387 – 397.
- [6] BRUSILOVSKAYA K, KONIGSHOFER P, SCHWABL P, et al. Vascular targets for the treatment of portal hypertension [J]. Semin Liver Dis, 2019, 39(4): 483 – 501.
- [7] LIU L, YOU Z, YU H, et al. Mechanotransduction-modulated fibrotic microniches reveal the contribution of angiogenesis in liver fibrosis [J]. Nat Mater, 2017, 16(12): 1252 – 1261.
- [8] XU M, XU HH, LIN Y, et al. LECT2, a ligand for tiel, plays a crucial role in liver fibrogenesis [J]. Cell, 2019, 178(6): 1478 – 1492.
- [9] 徐列明, 刘平, 沈锡中, 等. 肝纤维化中西医结合诊疗指南(2019 年版) [J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(7): 1444 – 1449.
- [10] 李婷婷. 基于“肝藏血主疏泄”理论的中医药干预乙型肝炎肝硬化的随机对照临床研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [11] 刘成海, 赵志敏, 吕靖. 中医对肝纤维化逆转的认识与治疗 [J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(4): 728 – 733.
- [12] 赵志敏, 刘成海. 中医药治疗肝纤维化研究进展 [J]. 实用肝脏病杂志, 2016, 19(1): 12 – 15.
- [13] 吕靖, 谭焱, 赵志敏, 等. 扶正化瘀组分复方抑制血管新生的抗肝纤维化作用机制 [J]. 世界中医药, 2015, 10(2): 186 – 191.
- [14] SUN Y, ZHOU J, WANG L, et al. New classification of liver biopsy assessment for fibrosis in chronic hepatitis B patients before and after treatment [J]. Hepatology, 2017, 65(5): 1438 – 1450.
- [15] XU S, WANG Y, TAI DCS, et al. qFibrosis: A fully-quantitative innovative method incorporating histological features to facilitate accurate fibrosis scoring in animal model and chronic hepatitis B patients [J]. J Hepatol, 2014, 61(2): 260 – 269.
- [16] WANG Y, HUANG W, LI R, et al. Systematic quantification of histological patterns shows accuracy in reflecting cirrhotic remodeling [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2017, 32(9): 1631 – 1639.
- [17] ASSELAH T, MARCELLIN P, BEDOSSA P. Improving performance of liver biopsy in fibrosis assessment [J]. J Hepatol, 2014, 61(2): 193 – 195.

Research Ideas of Traditional Chinese Medicine in Improving Revascularization of Hepatitis B Cirrhosis

ZHAO Zhimin^{1,2}, LI Zhengxin², ZHU Tingting², LIU Chenghai^{1,2,3}

1. Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203; 2. Shanghai Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine; 3. Shanghai Innovation Center of TCM Health Service

ABSTRACT In the development of hepatitis B cirrhosis, unbalanced liver blood vessel and vascular remodeling are important pathological changes that affect disease progression and reversal, and the molecular mechanism of hepatitis B cirrhosis vascular remodeling is complex. Traditional Chinese Medicine (TCM) has dominant position in treatment of hepatitis B cirrhosis, TCM has the characteristics of multi-level and multi-target comprehensive treatment, and is suitable for the overall regulation of vascular remodeling. Therefore, it is necessary to use multidisciplinary cross-cutting and systems biology methods and strategies to explore the possible mechanism of action of TCM to improve the vascular remodeling of hepatitis B cirrhosis, so as to discover the key targets of the therapy.

Keywords hepatitis B; cirrhosis; vascular remodeling; traditional Chinese medicine therapy; vascular homeostasis
(收稿日期: 2019-12-25; 修回日期: 2020-01-28)

编辑: 黄 健

(上接第 1313 页)

Exploration on XIONG Jibai's Experience in the Application of Wendan Decoction (温胆汤)

CHEN Chao, LIU Gengsheng

Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355

ABSTRACT Professor XIONG Jibai used *Wendan Decoction* (温胆汤) to treat various diseases, by appropriately adding flavors, or combining with several prescriptions, or using two prescriptions in sequence, so that the application of *Wendan Decoction* closely fits the complex condition of patients. From the following four aspects including application range and indications of *Wendan Decoction*, the modification of *Wendan Decoction*, the combination of *Wendan Decoction* with other prescriptions, and the application of *Wendan Decoction* and other prescriptions successively, Professor XIONG's experience in applying *Wendan Decoction* was summarized.

Keywords *Wendan Decoction* (温胆汤); experience of famous doctor; XIONG Jibai

(收稿日期: 2019-02-12; 修回日期: 2020-05-10)

编辑: 侯建春