文章编号:1000-5404(2014)18-1961-03

短篇论著

复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的观察

张瑞凤[1*],姚云洁[2*],游忠岚[3],王宇明[3],周智宏[1],郭秀荣[1],李秀霞[1],李立文[1],张万壮[1],袁 强[1] (063007 河北 唐山,河北联合大学附属医院感染科[1];401120 重庆,重庆渝北区人民医院感染科[2];400038 重庆,第三军医大学西南医院感染科,感染病研究重庆市重点实验室[3])

[摘要] **目的** 探讨复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦对慢性乙肝纤维化的治疗作用。**方法** 选择112例慢性乙肝肝纤维化病例,按自愿原则分为中西药结合治疗组(复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦)57例和西药治疗组(恩替卡韦)55例,监测其肝功能、乙肝病毒血清学标志物(HBV-M)、HBV DNA定量、肝纤维化指标、腹部彩超检测指标的变化及药物不良反应。**结果** 中西药结合治疗组和西药治疗组患者治疗后肝功能均较治疗前明显恢复,差异有统计学意义($P<0.05$,$P<0.01$),但两组间比较无显著差异($P>0.05$);HBV DNA定量下降到检测水平以下的发生率分别为87.72%(50/57)、85.45%(47/55),两组较治疗前比较差异均有统计学意义($P<0.01$),但治疗后组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);两组间患者HBeAg血清学转换率差异无统计学意义($P>0.05$);与治疗前相比,两组患者的肝纤维化指标及腹部彩超检测指标均有明显下降($P<0.05$),且中西药结合治疗组疗效优于西药组($P<0.05$)。**结论** 复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎肝纤维化疗效优于单用恩替卡韦治疗,值得临床广泛应用。

[关键词] 恩替卡韦;复方鳖甲软肝片;乙型肝炎;肝纤维化;疗效
[中图法分类号] R289.5;R512.62 [文献标志码] A

在我国,肝纤维化多见于慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B ,CHB),抗肝纤维化的治疗是治疗原发病、抗肝脏炎症、抑制胶原纤维形成与促进胶原降解等综合治疗[1]。CHB抗纤维化的治疗包括病因治疗(有效抑制病毒复制、去除病因)和抗炎治疗,但是病因与抗炎治疗不等于、也不能替代针对细胞外基质(extracellular matrix,ECM)代谢与肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化的狭义抗纤维化治疗[1]。因此,本研究选用了复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦联合治疗CHB肝纤维化。恩替卡韦(entecavir,ETV)是一种鸟嘌呤核苷类似物,能抑制乙型肝炎病毒(hepatitis b virus, HBV)多聚酶和逆转录酶,是目前亚太肝病专家共识[2]的抗HBV一线药物之一。活血化瘀的中药对肝纤维化具有较好的治疗效果[3]。复方鳖甲软肝片是《肝纤维化中西医结合诊疗指南》[1]推荐的中药制剂之一。相关研究显示,复方鳖甲软肝片具有软坚散结,化淤解毒,活血祛淤,益气养血之功效,能阻断、逆转肝纤维化,改善肝功能,调节免疫,长期服用无任何毒副作用[4-5]。我们发现两药联合治疗乙型肝炎肝纤维化的效果显著,现报告如下。

[基金项目] 国家科技重大专项课题(2012ZX10002004)
* 同等贡献者
[通信作者] 游忠岚,E-mail:you_zhonglan@163.com
王宇明,E-mail:wym417@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140701.1244.013.html(2014-07-01)

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择2012年1月至2013年1月于河北联合大学附属医院感染科门诊诊治的CHB患者112例,男性64例,女性48例,年龄29~65(40.3±5.6)岁;病程7~23年,平均11.2年;诊断均符合2010年12月由中华医学会肝病学分会、感染病学分会联合修订的《慢性乙型肝炎防治指南》[6]的诊断标准且排除以下情况:①诊断为慢性乙型肝炎重型者;②排除急性肝炎和其他型慢性肝炎所致肝纤维化;③肝炎后肝硬化失代偿期患者;④合并其他系统严重疾患者。⑤6个月内使用过干扰素等抗病毒药物及免疫调节剂治疗者;⑥妊娠及哺乳期妇女。所有患者HBsAg为阳性,HBeAg阳性者,HBV DNA定量≥10^5拷贝/mL;HBeAg阴性者,HBV DNA定量≥10^4拷贝/mL;血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)≥2~5倍正常值上限;血清透明质酸(HA)、层黏蛋白(LN)、Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)、Ⅲ型前胶原(PⅢP)4项指标中至少2项异常;按自愿原则将患者分为中西药结合治疗组57例和西药治疗组55例。本研究经医院伦理委员会批准,治疗前征得患者同意,并签署书面知情同意书。

1.2 治疗方法

两组均采用ETV(博路定,中美上海施贵宝制药有限公司生产,国药准字:H20052237,0.5 mg,7粒/盒)0.5 mg,每日1次,口服,长期抗病毒治疗。在此基础上,中西医结合治疗组加服复方鳖甲软肝片(内蒙古福瑞医疗科技股份有限公司生产,国药准字:Z19991011,0.5 g,100粒/盒),每次2.0 g,每日3次,疗程为48周。

1.3 检测指标及时间

1.3.1 检测指标 采用全自动生化分析仪(AU-5811)检测

肝功能,试剂均由贝克曼公司提供。采用酶联免疫法(ELISA)检查乙肝病毒血清学标志物(HBV-M),试剂由上海实业科华生物技术有限公司提供。采用聚合酶链式反应(PCR)检测HBV DNA,试剂由上海实业科华生物技术有限公司提供。采用上转发光免疫分析仪检测肝纤维化血清指标、HA、Ⅳ-C、PⅢP以及LN。检测试剂由北京热景生物技术有限公司提供。彩色多普勒超声仪(菲利普IU-22)检查门静脉主干内径、门静脉血流量、平均血流速度、脾脏长径和厚度。

1.3.2 检测时间 采用治疗前及治疗后12、24、48周检测肝功能;治疗前及治疗后12、24、48周检测HBV-M、HBV DNA定量;治疗前及治疗后24、48周检测血清纤维化指标及彩色多普勒超声仪各1次。

1.4 统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件,计量资料行t检验,计数资料行χ^2检验。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后肝功能指标变化

与治疗前比较,患者治疗后ALT、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)均恢复正常,白蛋白(ALB)有升高趋势($P<0.05$,$P<0.01$);但两组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$,表1)。

表1 两组治疗前后肝功能指标变化($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL(μmol/L)	ALB(g/L)
西药治疗组	55				
治疗前		114.8±72.9	95.8±62.0	22.8±7.9	38.2±3.9
治疗12周		51.5±42.6[b]	53.6±46.1[b]	18.3±9.1[a]	38.8±4.0
治疗24周		34.8±32.7[b]	41.1±37.2[b]	17.8±8.5[a]	40.9±3.7[a]
治疗48周		31.1±20.4[b]	34.8±23.7[b]	16.5±7.1[a]	41.5±4.9[a]
中西药结合治疗组	57				
治疗前		118.7±70.9	97.4±68.3	22.2±10.1	38.5±3.8
治疗12周		47.8±32.6[b]	48.6±42.4[b]	17.4±8.7[a]	38.9±4.1
治疗24周		35.2±31.3[b]	37.5±29.8[b]	15.3±3.9[b]	41.9±4.2[a]
治疗48周		32.6±21.5[b]	34.6±25.2[b]	15.1±3.2[b]	43.2±4.5[b]

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与治疗前比较

2.2 两组患者治疗前后肝纤维化4项比较

与治疗前比较,两组患者治疗后肝纤维化各项指标显著减低($P<0.05$,$P<0.01$);治疗48周后中西药结合组血清Ⅳ-C、PⅢP含量均低于西药治疗组($P<0.05$,表2)。

表2 两组治疗前后肝纤维化4项比较(μg/L,$\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Ⅳ-C	HA	PⅢP	LN
西药治疗组	55				
治疗前		342.80±161.46	183.26±101.50	270.60±67.94	250.66±159.25
治疗24周		260.92±91.87[a]	165.63±65.91[a]	148.80±30.50[a]	188.60±109.37[a]
治疗48周		218.13±75.32[b]	130.12±49.89[a]	131.93±28.03[b]	178.80±99.50[a]
中西药联合治疗组	57				
治疗前		365.17±119.07	181.14±76.09	262.83±64.89	242.61±189.20
治疗24周		231.14±86.22[b]	129.21±55.26[a]	142.15±28.56[a]	143.73±102.85[a]
治疗48周		172.40±58.16[bde]	98.97±50.42[bc]	117.96±26.02[bce]	132.48±101.83[a]

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$与治疗前比较;c:$P<0.05$,d:$P<0.01$与24周比较;e:$P<0.05$,与西药治疗组比较

2.3 两组患者治疗前后彩色多普勒超声检测指标比较

与治疗前比较,两组患者治疗后24周,门静脉内径、门静脉血流量减少,门静脉血流速度增加($P<0.05$),脾脏长径、脾脏厚度差异无统计学意义($P>0.05$);与治疗前比较,治疗后48周,脾脏长径、脾脏厚度差异也有统计学意义($P<0.05$);且中西药结合组与西药治疗组比较,除脾脏厚度外($P>0.05$),其余指标差异均有统计学意义($P<0.05$,表3)。

2.4 HBV指标及HBV DNA定量

中西药结合治疗组和西药治疗组治疗后HBV DNA定量下降到检测水平以下的发生率分别为87.72%(50/57)、85.45%(47/55),与治疗前比较差异均有统计学意义($P<0.01$),但治疗后两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);两组治疗后均未出现HBsAg阴转,而治疗后48周两组HBeAg血清学转换率分别为26.32%(15/57)和21.82%(12/55),差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.5 不良反应

中西药结合治疗组于治疗过程中有9例服用复方鳖甲软肝片后有恶心、胃部不适感,嘱其餐后服用,自行缓解。中西药结合治疗组有4例、西药治疗组有5例患者于治疗初期服用ETV出现轻度腹泻,之后随治疗时间延长而消失。未发现其他不良反应。

3 讨论

CHB肝纤维化的启动因素是病毒复制,抗病毒治疗可减少肝脏坏死,阻止肝纤维化的进展,包括肝纤维化的逆转。ETV能强效、快速抑制HBV复制,具有长期使用耐药率低(4年内耐药发生率低于1%[7])、耐

表3 两组患者治疗前后彩色多普勒超声检测指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	门静内径(cm)	血流速度(cm/s)	脾脏长径(cm)	脾脏厚度(cm)	门静脉血流(mL/min)
西药治疗组	55					
治疗前		1.48±0.10	13.05±2.19	12.09±0.18	5.06±0.15	1 330.70±171.15
治疗24周		1.40±0.15[a]	13.81±1.51[a]	12.05±0.16	5.08±0.11	1 279.06±117.13[a]
治疗48周		1.37±0.14[a]	13.92±1.16[a]	11.90±0.20[a]	4.78±0.01[a]	1 276.08±189.59[a]
中西药联合治疗组	57					
治疗前		1.47±0.21	13.11±2.13	12.08±0.16	4.94±0.18	1 345.91±187.43
治疗24周		1.37±0.10[a]	13.89±2.14[a]	11.92±0.05	4.83±0.07	1 291.46±151.52[a]
治疗48周		1.27±0.17[abc]	15.20±1.39[abc]	10.15±0.12[abc]	4.60±0.05[ab]	1 220.27±150.46[abc]

a:$P<0.05$,与治疗前比较;b:$P<0.05$,与24周比较;c:$P<0.05$,与西药治疗组比较

受性好等优点。本研究结果显示:ETV治疗CHB能使患者肝功能恢复,促进HBeAg、HBV DNA转阴,肝纤维化指标及腹部彩超检测指标均得到改善,表明其对HBV复制的抑制作用强大,与文献[8]报道一致。现代研究表明,肝纤维化发生的中心环节是HSC的增生和激活,HSC活化分启动与持续两个阶段,启动主要依赖旁分泌机制;持续除旁分泌外,还与活化HSC的自分泌有关[3]。单用西药抗病毒治疗不能完全阻断HSC活化的两个阶段,阻止CHB肝纤维化的发生、进展。我国的传统中药有多成分、多环节、多靶点的作用特点,对病理复杂的疾病可发挥综合治疗优势。复方鳖甲软肝片主要成分为鳖甲、莪术、赤芍、当归、三七、党参、黄芪、紫河车、冬虫夏草、板蓝根、连翘11味中药,可能通过以下途径抗纤维化:①增强金属基质蛋白酶(MMPs)的生物活性,达到降解过度沉积的ECM;②抑制HSC活化、增殖,促进其凋亡,降低活化的HSC数目;③抑制ECM生成转化生长因子-β(TGF-β)的作用;④抑制肝细胞脂质过氧化,清除自由基;⑤调节HSC的L型钙通道,抑制HSC中Ca^{2+}的升高;达到多靶位影响肝纤维化形成及逆转环节产生抗肝纤维化效果[3]。本研究证实:复方鳖甲软肝片能有效降低血清肝纤维化指标,缩小门静脉直径和脾脏的大小,减少门静脉血流量,降低门脉压,对CHB肝纤维化的治疗具有明显的辅助作用。采用中西药结合(复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦)治疗CHB肝纤维化,优于西药治疗组,两者结合既可迅速治标(抑制HBV复制)以缓急,又能达到扶正而固本,可弥补不足,增强抗肝纤维化疗效,减少不良反应,近年来的研究报道也都证实了这一理论[9-10],值得临床广泛应用及进一步观察远期疗效。

参考文献:

[1] 中国中西医结合学会肝病专业委员会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南[J]. 中国肝脏病杂志:电子版, 2010, 2(4): 54-59.
[2] Laiw Y F, Kao J H, Piratvisuth T, *et al*. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2012 update [J]. Hepatol Int, 2012, 6(3): 531-561.
[3] 雷娜, 郑仕中, 陆茵. 活血化瘀类中药防治肝纤维化的机制及研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2010,25(2): 265-268.
[4] 夏晖, 张宁, 周双男, 等. 复方鳖甲软肝片抗肝纤维化研究进展[J]. 医药导报, 2013, 32(4): 500-503.
[5] 曾荣城, 陈彪, 张仁品, 等. 复方鳖甲软肝片与安络化纤丸治疗肝纤维化的疗效比较[J]. 中国医药指南, 2012,10(33): 286-287.
[6] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. 中国肝脏病杂志: 电子版, 2011,3(1): 40-56.
[7] Locarnini S. 慢性乙型肝炎抗病毒耐药及其处理[J]. 肝脏, 2007, 12(3): 161-163.
[8] 康健,马德强,张银华. 恩替卡韦治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者疗效观察[J]. 肝脏,2012,17(7): 529-530.
[9] 赵科孝. 恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片治疗早期乙型肝炎肝硬化临床观察[J]. 实用肝脏病杂志, 2011,14(6): 461-462.
[10] 郭文强. 复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦治疗乙肝后肝硬化随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志, 2013,27(5): 111-112.

(**收稿**:2014-03-30;**修回**:2014-04-21)
(编辑 王小寒)

文章编号:1000-5404(2014)18-1963-03

短篇论著

利用超分支滚环扩增技术检测miR-21

郭仲莉[1,2],曾照芳[2],鲁卫平[1] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所检验科[1];400016 重庆,重庆医科大学检验医学院临床检验诊断学教育部重点实验室[2])

[**摘要**] **目的** 利用超分支滚环扩增(hyper-rolling cycle amplification,HRCA)技术建立一种检测microRNA的方法。**方法** 以miR-21为研究对象,设计特异的逆转录引物及锁式探针。通过对不同浓度的模板及不同的microRNA进行检测来研究本方法的灵敏度和特异性。**结果** 通过对反应条件进行优化,100 nmol/L的锁式探针在*Taq* DNA连接酶作用下46 ℃连接30 min,Bst DNA聚合酶作用下60 ℃反应50 min,可实现靶序列最大效率的扩增。该方法特异性好,最低检测浓度为10 pmol/L。**结论** HRCA技术灵敏度高、特异性好,无需特殊昂贵的仪器,且简单易操作,能够应用于microRNA检测。

[**关键词**] miR-21;超分支滚环扩增技术;锁式探针
[**中图法分类号**] R394-33 [**文献标志码**] A

[**基金项目**] 国家自然科学基金(81171667);重庆市科委攻关课题(CSTC2011AC5033)
[**通信作者**] 鲁卫平,电话:(023)68757607,E-mail:ronnylu@126.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140821.1453.022.html(2014-08-21)