

文章编号: 1005-0957 (2024) 11-1204-07

· 临床研究 ·

# 针药并用治疗慢性乙型重型肝炎的疗效观察及对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响

万亮, 万贵香, 赵亚博, 梁微微, 杜辉, 宁振海, 周媛  
(河北省邯郸市传染病医院, 邯郸 056000)

**【摘要】 目的** 观察针药并用治疗慢性乙型重型肝炎的临床疗效, 分析其对磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路的影响。**方法** 将 75 例慢性乙型重型肝炎患者随机分为观察组、对照 A 组和对照 B 组, 每组 25 例。3 组均予常规西医治疗, 对照 A 组予以口服疏肝化瘀方治疗, 对照 B 组予以针刺治疗, 观察组予以针刺联合口服疏肝化瘀方治疗。比较 3 组临床疗效, 观察 3 组治疗前后中医证候积分、肝功能 [血清丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST) 水平]、肝纤维化指标 [血清层黏连蛋白 (laminin, LN)、透明质酸 (hualuronic acid, HA) 水平]、病毒性肝炎肝损伤指标 [外周血淋巴细胞穿孔素 (perforin, PRF) 和颗粒酶 B (granzyme B, GrzB) 阳性细胞率] 及 PI3K、Akt、mTOR mRNA 水平, 并进行安全性分析。**结果** 观察组总有效率高于对照 A 组和对照 B 组 ( $P < 0.05$ )。观察组治疗后中医证候积分低于对照 A 组和对照 B 组 ( $P < 0.05$ ), 血清 ALT、AST、HA、LN 水平低于对照 A 组和对照 B 组 ( $P < 0.05$ ), 外周血淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率高于对照 A 组和对照 B 组 ( $P < 0.05$ ), HBV-DNA 载量低于对照 A 组和对照 B 组 ( $P < 0.05$ ), 外周血 PI3K、Akt、mTOR mRNA 水平低于对照 A 组和对照 B 组 ( $P < 0.05$ ); 对照 A 组、对照 B 组不同指标比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。治疗期间 3 组均未出现不良反应。**结论** 针药并用治疗慢性乙型重型肝炎, 可提高临床疗效, 改善临床症状、肝纤维化, 减轻病毒性肝炎损伤, 且具有一定安全性, 其作用机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路活化有关。

**【关键词】** 针刺疗法; 针药并用; 乙型肝炎, 慢性; 磷脂酰肌醇 3-激酶; 蛋白激酶 B; 哺乳类动物雷帕霉素靶蛋白

**【中图分类号】** R246.1 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2024.11.0002

**Observation on the efficacy of acupuncture-medication combination in the treatment of chronic severe hepatitis B and its effect on PI3K/Akt/mTOR signaling pathway** WAN Liang, WAN Guixiang, ZHAO Yabo, LIANG Weiwei, DU Hui, NING Zhenhai, ZHOU Yuan. Handan Infectious Disease Hospital, Handan 056000, Hebei Province, China

**[Abstract] Objective** To observe the clinical efficacy of the acupuncture-medication combination treatment of chronic hepatitis B, and analyze the effects on phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. **Method** Seventy-five patients with chronic hepatitis B were randomly divided into the observation group, the control group A and the control group B, with 25 cases in each group. Each group was treated with conventional western medicine. The control group A was treated with oral liver-sparing and stasis-reducing formula, the control group B was treated with acupuncture, and the observation group was treated with acupuncture combined with oral Shugan Huayu formula. The clinical efficacy of the three groups was compared. The Chinese medicine syndrome score, liver function [serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate transaminase

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目 (2022665)

作者简介: 万亮 (1985—), 男, 主治医师, 硕士, Email: qingming2015@126.com

(AST) levels], liver fibrosis indexes [serum laminin (LN), hyaluronic acid (HA) levels], viral hepatitis liver injury indicators [peripheral blood lymphocyte perforin (PRF) and granzyme B (GrzB)-positive cell rate], and PI3K, Akt, mTOR mRNA levels were observed in the three groups before and after treatment, and safety analysis was performed. **Result** The total effective rate of the observation group was higher than that of the control A and control B groups ( $P<0.05$ ). After treatment, the Chinese medicine syndrome score of the observation group was lower than that of the control group A and control group B ( $P<0.05$ ), the serum levels of ALT, AST, HA and LN of the observation group were lower than those of control group A and control group B ( $P<0.05$ ), the rate of peripheral blood lymphocytes with positive PRF and GrzB cells of the observation group was higher than that of control group A and control group B ( $P<0.05$ ), and the load of HBV-DNA of the observation group was lower than that of control group A and control group B ( $P<0.05$ ), peripheral blood PI3K, Akt, mTOR mRNA levels of the observation group were lower than those in control A and control B groups ( $P<0.05$ ); the difference between different indexes in control A and control B groups was not statistically significant ( $P>0.05$ ). No adverse reactions occurred in the three groups during the treatment period. **Conclusion** Acupuncture-medication combination therapy for chronic hepatitis B can improve clinical efficacy, improve clinical symptoms, liver fibrosis, reduce viral hepatitis damage, and has a certain degree of safety, and its mechanism of action may be related to the inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway activation.

**[Key words]** Acupuncture therapy; Acupuncture medication combined; Hepatitis B, Chronic; Phosphatidylinositol 3-kinase; Protein kinase B; Mammalian target of rapamycin

慢性乙型重型肝炎是在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染后随着病程进展出现的严重肝脏疾病,我国每年约有 2.1% 患者发展成肝纤维化,约有 20~30 万慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者因重型肝炎病死<sup>[1]</sup>。西医一般采用抗病毒等药物治疗,可抑制 HBV 复制,但治疗方案无特异性,长期服用药物可能引起耐药性<sup>[2]</sup>。中医学理论认为 CHB 属于“胁痛”“黄疸”等范畴,肝肾阴虚、土壅木郁、气滞血瘀、郁而化热,发为黄疸,长期肝气郁结,脾失健运,又可累及于肝,加重肝失疏泄,而致慢性乙型重型肝炎证型为肝郁血瘀<sup>[3]</sup>。针灸可用于治疗各种急慢性疾病,提高 CHB 治疗效果<sup>[4]</sup>。中药疏肝化瘀方具有调畅气机、凉血活血、理气化湿、滋阴养血之效<sup>[5]</sup>。磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路活化可参与肝纤维化发生过程<sup>[6]</sup>。目前针灸联合疏肝化瘀方在慢性乙型重型肝炎中可能作用机制尚未明确,基于此,本研究主要探讨针刺联合中西药并用治疗慢性乙型重型肝炎的临床疗效,并与单纯中西药或者针刺联合西药相比较,分析其对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的调控作用。

## 1 临床资料

### 1.1 一般资料

选取 2020 年 10 月至 2022 年 9 月河北省邯郸市传染病医院收治的 75 例慢性乙型重型肝炎患者为研究对象,采用随机数字表法将患者分为观察组、对照 A 组和对照 B 组,每组 25 例。观察组中男 15 例,女 10 例;年龄 41~53 岁,平均  $(47\pm 2)$  岁;身体质量指数  $20\sim 29\text{ kg/m}^2$ ,平均  $(24.36\pm 1.35)\text{ kg/m}^2$ ;病程 1~6 年,平均  $(3.20\pm 0.73)$  年;有 HBV 家族史 16 例,无 9 例。对照 A 组中男 17 例,女 8 例;年龄 42~56 岁,平均  $(48\pm 2)$  岁;身体质量指数  $19\sim 29\text{ kg/m}^2$ ,平均  $(23.85\pm 1.46)\text{ kg/m}^2$ ;病程 1~6 年,平均  $(3.68\pm 0.88)$  年;有 HBV 家族史 12 例,无 13 例。对照 B 组中男 14 例,女 11 例;年龄 41~53 岁,平均  $(47.03\pm 1.82)$  岁;身体质量指数  $19\sim 30\text{ kg/m}^2$ ,平均  $(24.07\pm 1.51)\text{ kg/m}^2$ ;病程 1~7 年,平均  $(3.31\pm 0.72)$  年;有 HBV 家族史 17 例,无 8 例。3 组一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究经河北省邯郸市传染病医院伦理委员会批准(编号 2020-0903)。

### 1.2 纳入标准

符合慢性乙型重型肝炎西医诊断标准<sup>[7]</sup>;符合慢性乙型重型肝炎中医肝郁血瘀诊断标准<sup>[8]</sup>,主症为胁肋疼痛、腹胀纳差、舌暗红、脉弦涩,次症为胸胁胀闷、

口苦、大便不调;既往慢性乙肝病史;未伴有严重器官功能障碍;对针灸治疗耐受;肝功能 Child-Pugh 分级为 A 级;初治者。

### 1.3 排除标准

合并肝肾综合征、严重感染等者;合并肝脏恶性肿瘤及其他肿瘤者;精神类疾病史者;长期口服精神类药物者;酒精性肝炎者;已发展为肝硬化失代偿期者。

## 2 治疗方法

3 组予以常规西医治疗,包括常规静脉营养支持、抗病毒、抗炎保肝、促进肝细胞再生、补充血浆、补充白蛋白、人工肝血浆置换等。

### 2.1 对照 A 组

予以疏肝化瘀方治疗。药物组成为赤芍 15 g, 桃仁 15 g, 红花 15 g, 茜草 15 g, 升麻 10 g, 葛根 10 g, 枳壳 10 g, 木香 10 g, 茯苓 10 g, 泽泻 10 g, 金钱草 6 g, 茵陈 6 g, 大黄 6 g, 当归 6 g, 芍药 6 g, 水煎取汁 400 mL, 每次 200 mL。每日 2 次,连续治疗 6 个月。

### 2.2 对照 B 组

采用针刺治疗。穴位取合谷、内关、中脘、天枢、足三里、阴陵泉、上巨虚、三阴交和太冲,针刺手法以泻法为主,留针 30 min。每日 1 次,连续治疗 6 个月。

### 2.3 观察组

予以疏肝化瘀方联合针刺治疗,治疗方法对照 A 组和对照 B 组。

## 3 治疗效果

### 3.1 观察指标

#### 3.1.1 中医证候积分<sup>[9]</sup>

治疗前、治疗 1 个月后、治疗 3 个月后和治疗后观察中医证候积分,主症、次症按照症状严重程度分别计 0、1、2、3 分,分值与症状严重程度呈正相关。

#### 3.1.2 肝功能及肝纤维化指标

治疗前、治疗 1 个月后、治疗 3 个月后和治疗后分别采集 3 组空腹外周静脉血 3 mL,常规离心后分离血清,采用 AU5800 全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司)检测血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)水平,采用放射免疫法检测血清层黏连蛋白(laminin, LN)和透明质酸(hyaluronic acid, HA)水平。

#### 3.1.3 外周血淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率及 HBV-DNA 载量

治疗前、治疗 1 个月后、治疗 3 个月后和治疗后分别采集各组空腹外周静脉血 3 mL 置于 EDTA 抗凝管内,采用 C6 流式细胞仪(美国 BD 公司)检测外周血淋巴细胞穿孔素(perforin, PRF)、颗粒酶 B(granzyme B, GrzB)阳性细胞率。采用实时荧光 PCR 检测 HBV-DNA 载量。

#### 3.1.4 PI3K、Akt 和 mTOR mRNA 水平

分别于治疗前、治疗 1 个月后、治疗 3 个月后和治疗后采集各组空腹外周静脉血 5 mL,使用淋巴分离液分离单个核细胞,采用 Trizol 试剂(北京索莱宝公司)提取细胞总 RNA,依据反转录试剂盒(北京天根生化公司)合成 cDNA,以 cDNA 为模板进行实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)扩增,反应体系为 10×PCR Buffer 2.5 μL, MgSO<sub>4</sub> 2.5 μL, dNTPs 2.5 μL, 正反向引物各 0.5 μL, cDNA 2 μL, RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 补足体系至 25 μL。以 β-actin 为内参,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup>法检测 PI3K、Akt、mTOR mRNA 相对表达量。PI3K 正向引物 5'-CTGTATCAAAAGGCCAACTGAA-3', 反向引物 5'-GTGTCTATCCTTATGAATCG CCA-3'; Akt 正向引物 5'-CCTGCTCGAATCTTCCTACAA-3', 反向引物 5'-CCTCTTCTCCAT TTCATCACTA-3'; mTOR 正向引物 5'-GCCCTCGTGCCCTTCTCA-3', 反向引物 5'-GGCCAGCCGCTCTTCTTG-3'; β-actin 正向引物 5'-CTGGCATTGTCAT GGACTCT-3', 反向引物 5'-GCGATGATCTTGATCTTCAT-3', 引物由上海生物工程股份有限公司设计合成。

#### 3.1.5 安全性指标

统计治疗期间血、尿常规及心电图异常等不良反应发生情况。

### 3.2 疗效标准<sup>[10]</sup>

以主症总分减分率为依据,减分率=治疗前后主症积分差值/治疗前积分。

显效:主症总分减分率≥70%且肝功能恢复正常。

有效:主症总分减分率≥30%且<70%,肝功能指标好转。

无效:不符合上述标准。

总有效率=显效率+有效率。

### 3.3 统计学方法

通过 SPSS26.0 软件分析进行统计分析。符合正态

分布的计量资料以均数±标准差表示,比较采用  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Bonferroni 法;重复测量资料比较采用重复测量方差分析。计数资料以例表示,比较采用卡方检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

3.4 治疗结果

3.4.1 3 组治疗前后中医证候积分比较

重复测量方差分析显示,组间、时间及组别和时间的交互作用比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。3 组治疗 1 个月后、治疗 3 个月后和治疗后中医证候主症、次症积分及总积分均显著下降 ( $P<0.05$ ),且观

察组低于对照 A 组和对照 B 组 ( $P<0.05$ ),对照 A 组和对照 B 组中医证候主症、次症积分及总积分比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。详见表 1。

3.4.2 3 组治疗前后肝功能及肝纤维化指标比较

重复测量方差分析显示,组间、时间及组别和时间的交互作用比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。3 组治疗前 ALT、AST、HA、LN 比较,差异无统计学意义 ( $P>0.05$ );3 组治疗 1 个月后、治疗 3 个月后和治疗后 ALT、AST、HA、LN 均下降 ( $P<0.05$ ),且观察组低于对照 A 组和对照 B 组 ( $P<0.05$ ),对照 A 组和对照 B 组各指标比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。详见表 2。

表 1 3 组治疗前后中医证候积分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

单位:分

| 指标  | 组别     | 例数 | 治疗前        | 治疗 1 个月后                   | 治疗 3 个月后                  | 治疗后                       |
|-----|--------|----|------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 主症  | 观察组    | 25 | 12.52±2.05 | 8.79±1.58 <sup>1)</sup>    | 4.37±0.78 <sup>1)</sup>   | 2.89±0.42 <sup>1)</sup>   |
|     | 对照 A 组 | 25 | 12.47±2.19 | 9.52±1.67 <sup>1)2)</sup>  | 6.02±1.02 <sup>1)2)</sup> | 3.78±0.60 <sup>1)2)</sup> |
|     | 对照 B 组 | 25 | 12.49±2.13 | 9.69±1.72 <sup>1)2)</sup>  | 6.14±1.15 <sup>1)2)</sup> | 3.92±0.75 <sup>1)2)</sup> |
| 次症  | 观察组    | 25 | 4.17±0.69  | 3.06±0.48 <sup>1)</sup>    | 2.14±0.39 <sup>1)</sup>   | 1.02±0.32 <sup>1)</sup>   |
|     | 对照 A 组 | 25 | 4.15±0.72  | 3.42±0.54 <sup>1)2)</sup>  | 2.68±0.47 <sup>1)2)</sup> | 1.48±0.37 <sup>1)2)</sup> |
|     | 对照 B 组 | 25 | 4.15±0.68  | 3.50±0.57 <sup>1)2)</sup>  | 2.74±0.52 <sup>1)2)</sup> | 1.50±0.39 <sup>1)2)</sup> |
| 总积分 | 观察组    | 25 | 16.69±3.14 | 11.85±2.07 <sup>1)</sup>   | 6.51±1.29 <sup>1)</sup>   | 3.91±0.89 <sup>1)</sup>   |
|     | 对照 A 组 | 25 | 16.62±3.06 | 12.94±2.58 <sup>1)2)</sup> | 8.70±1.71 <sup>1)2)</sup> | 5.26±1.02 <sup>1)2)</sup> |
|     | 对照 B 组 | 25 | 16.64±3.09 | 12.43±2.63 <sup>1)2)</sup> | 8.88±1.80 <sup>1)2)</sup> | 5.42±1.09 <sup>1)2)</sup> |

注:与同组治疗前比较 <sup>1)</sup> $P<0.05$ ;与观察组比较 <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

表 2 3 组治疗前后肝功能及肝纤维化指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 指标                       | 组别     | 例数 | 治疗前          | 治疗 1 个月后                     | 治疗 3 个月后                     | 治疗后                          |
|--------------------------|--------|----|--------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| ALT/(U·L <sup>-1</sup> ) | 观察组    | 25 | 178.31±20.24 | 115.64±12.35 <sup>1)</sup>   | 78.25±7.31 <sup>1)</sup>     | 40.73±5.63 <sup>1)</sup>     |
|                          | 对照 A 组 | 25 | 175.63±18.92 | 127.82±14.85 <sup>1)2)</sup> | 89.41±8.74 <sup>1)2)</sup>   | 49.88±6.74 <sup>1)2)</sup>   |
|                          | 对照 B 组 | 25 | 177.49±19.11 | 130.94±15.06 <sup>1)2)</sup> | 91.23±9.85 <sup>1)2)</sup>   | 50.22±6.83 <sup>1)2)</sup>   |
| AST/(U·L <sup>-1</sup> ) | 观察组    | 25 | 168.22±12.35 | 120.47±9.43 <sup>1)</sup>    | 80.41±8.25 <sup>1)</sup>     | 41.24±4.36 <sup>1)</sup>     |
|                          | 对照 A 组 | 25 | 167.21±14.03 | 132.84±11.25 <sup>1)2)</sup> | 91.25±9.06 <sup>1)2)</sup>   | 48.31±5.02 <sup>1)2)</sup>   |
|                          | 对照 B 组 | 25 | 166.94±13.82 | 135.06±10.69 <sup>1)2)</sup> | 92.33±9.43 <sup>1)2)</sup>   | 49.06±5.14 <sup>1)2)</sup>   |
| HA/(μg·L <sup>-1</sup> ) | 观察组    | 25 | 237.14±42.83 | 180.41±24.33 <sup>1)</sup>   | 135.24±21.44 <sup>1)</sup>   | 96.84±16.11 <sup>1)</sup>    |
|                          | 对照 A 组 | 25 | 235.27±45.37 | 203.69±26.41 <sup>1)2)</sup> | 152.83±24.37 <sup>1)2)</sup> | 112.85±18.06 <sup>1)2)</sup> |
|                          | 对照 B 组 | 25 | 236.02±44.88 | 205.87±30.12 <sup>1)2)</sup> | 155.69±25.06 <sup>1)2)</sup> | 113.94±15.27 <sup>1)2)</sup> |
| LN/(μg·L <sup>-1</sup> ) | 观察组    | 25 | 183.79±22.64 | 139.41±14.33 <sup>1)</sup>   | 105.63±13.41 <sup>1)</sup>   | 89.31±10.25 <sup>1)</sup>    |
|                          | 对照 A 组 | 25 | 182.11±22.07 | 158.63±17.96 <sup>1)2)</sup> | 127.85±15.06 <sup>1)2)</sup> | 95.31±12.14 <sup>1)2)</sup>  |
|                          | 对照 B 组 | 25 | 180.69±21.46 | 159.47±18.24 <sup>1)2)</sup> | 128.94±15.27 <sup>1)2)</sup> | 96.02±12.89 <sup>1)2)</sup>  |

注:与同组治疗前比较 <sup>1)</sup> $P<0.05$ ;与观察组比较 <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

3.4.3 3 组治疗前后外周血淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率及 HBV-DNA 载量比较

重复测量方差分析显示,组间、时间及组别和时间

的交互作用比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。3 组治疗前外周血淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率及 HBV-DNA 载量比较,差异无统计学意义 ( $P>0.05$ );3 组

治疗 1 个月后、治疗 3 个月后和治疗后外周血淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率均明显升高 ( $P<0.05$ ), HBV-DNA 载量显著下降 ( $P<0.05$ ), 且观察组淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率高于对照 A 组和对照 B 组 ( $P<0.05$ ),

HBV-DNA 载量低于对照 A 组和对照 B 组 ( $P<0.05$ ), 对照 A 组和对照 B 组外周血淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率及 HBV-DNA 载量比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。详见表 3。

表 3 3 组治疗前后外周血淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率及 HBV-DNA 载量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 指标                                            | 组别     | 例数 | 治疗前        | 治疗 1 个月后                   | 治疗 3 个月后                   | 治疗后                        |
|-----------------------------------------------|--------|----|------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| PRF (%)                                       | 观察组    | 25 | 12.87±1.56 | 14.94±1.52 <sup>1)</sup>   | 18.25±1.67 <sup>1)</sup>   | 21.18±2.08 <sup>1)</sup>   |
|                                               | 对照 A 组 | 25 | 12.85±1.52 | 13.95±1.56 <sup>1)2)</sup> | 17.14±1.52 <sup>1)2)</sup> | 19.02±2.04 <sup>1)2)</sup> |
|                                               | 对照 B 组 | 25 | 12.87±1.49 | 13.92±1.49 <sup>1)2)</sup> | 17.08±1.55 <sup>1)2)</sup> | 19.00±1.97 <sup>1)2)</sup> |
| GrzB (%)                                      | 观察组    | 25 | 25.38±2.07 | 29.02±2.11 <sup>1)</sup>   | 34.83±2.24 <sup>1)</sup>   | 38.41±2.67 <sup>1)</sup>   |
|                                               | 对照 A 组 | 25 | 24.94±2.12 | 27.49±2.05 <sup>1)2)</sup> | 32.57±2.05 <sup>1)2)</sup> | 36.02±2.46 <sup>1)2)</sup> |
|                                               | 对照 B 组 | 25 | 25.22±2.09 | 27.37±2.02 <sup>1)2)</sup> | 32.49±2.19 <sup>1)2)</sup> | 35.97±2.50 <sup>1)2)</sup> |
| HBV-DNA 载量/<br>(log Copy · mL <sup>-1</sup> ) | 观察组    | 25 | 7.25±2.13  | 5.25±0.74 <sup>1)</sup>    | 3.32±0.46 <sup>1)</sup>    | 2.27±0.25 <sup>1)</sup>    |
|                                               | 对照 A 组 | 25 | 7.22±2.06  | 6.06±0.82 <sup>1)2)</sup>  | 3.92±0.52 <sup>1)2)</sup>  | 2.76±0.30 <sup>1)2)</sup>  |
|                                               | 对照 B 组 | 25 | 7.24±2.11  | 5.89±0.80 <sup>1)2)</sup>  | 3.89±0.54 <sup>1)2)</sup>  | 2.71±0.27 <sup>1)2)</sup>  |

注:与同组治疗前比较 <sup>1)</sup> $P<0.05$ ;与观察组比较 <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

3.4.4 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关 mRNA 表达

重复测量方差分析显示,组间、时间及组别和时间的交互作用比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。3 组治疗前 PI3K、Akt、mTOR mRNA 比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ );3 组治疗 1 个月后、治疗 3 个月后和治疗后 PI3K、Akt、mTOR mRNA 均明显下降 ( $P<0.05$ ),且观察组低于对照 A 组和对照 B 组 ( $P<0.05$ ),对照

A 组和对照 B 组 PI3K、Akt、mTOR mRNA 比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。详见表 4。

3.4.5 3 组临床疗效比较

观察组总有效率高于对照 A 组和对照 B 组 ( $P<0.05$ ),对照 A 组和对照 B 组比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。详见表 5。

表 4 3 组 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关 mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 指标   | 组别     | 例数 | 治疗前       | 治疗 1 个月后                  | 治疗 3 个月后                  | 治疗后                       |
|------|--------|----|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| PI3K | 观察组    | 25 | 6.14±0.79 | 4.52±0.40 <sup>1)</sup>   | 3.44±0.33 <sup>1)</sup>   | 1.78±0.25 <sup>1)</sup>   |
|      | 对照 A 组 | 25 | 6.12±0.75 | 5.14±0.56 <sup>1)2)</sup> | 3.92±0.47 <sup>1)2)</sup> | 2.41±0.32 <sup>1)2)</sup> |
|      | 对照 B 组 | 25 | 6.14±0.72 | 5.20±0.54 <sup>1)2)</sup> | 4.04±0.45 <sup>1)2)</sup> | 2.45±0.37 <sup>1)2)</sup> |
| Akt  | 观察组    | 25 | 6.02±0.58 | 4.98±0.37 <sup>1)</sup>   | 3.22±0.17 <sup>1)</sup>   | 1.45±0.13 <sup>1)</sup>   |
|      | 对照 A 组 | 25 | 6.04±0.55 | 5.49±0.43 <sup>1)2)</sup> | 3.84±0.20 <sup>1)2)</sup> | 1.62±0.15 <sup>1)2)</sup> |
|      | 对照 B 组 | 25 | 6.01±0.52 | 5.52±0.40 <sup>1)2)</sup> | 3.90±0.25 <sup>1)2)</sup> | 1.64±0.17 <sup>1)2)</sup> |
| mTOR | 观察组    | 25 | 4.98±0.43 | 4.02±0.39 <sup>1)</sup>   | 3.11±0.27 <sup>1)</sup>   | 1.89±0.15 <sup>1)</sup>   |
|      | 对照 A 组 | 25 | 4.95±0.47 | 4.47±0.41 <sup>1)2)</sup> | 3.75±0.30 <sup>1)2)</sup> | 2.27±0.16 <sup>1)2)</sup> |
|      | 对照 B 组 | 25 | 4.97±0.45 | 4.50±0.42 <sup>1)2)</sup> | 3.78±0.29 <sup>1)2)</sup> | 2.31±0.18 <sup>1)2)</sup> |

注:与同组治疗前比较 <sup>1)</sup> $P<0.05$ ;与观察组比较 <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

表 5 3 组临床疗效比较 单位:例

| 组别     | 例数 | 显效 | 有效 | 无效 | 总有效率 (%)           |
|--------|----|----|----|----|--------------------|
| 观察组    | 25 | 15 | 9  | 1  | 96.0               |
| 对照 A 组 | 25 | 8  | 10 | 7  | 72.0 <sup>1)</sup> |
| 对照 B 组 | 25 | 6  | 11 | 8  | 68.0 <sup>1)</sup> |

注:与观察组比较 <sup>1)</sup> $P<0.05$ 。

3.5 3 组不良反应发生情况比较

3 组治疗期间均未出现血、尿常规及心电图异常等不良反应。

4 讨论

慢性乙型重型肝炎发病机制可能为 HBV 感染后引

起全身炎症反应,促使免疫系统清除病毒能力减弱,引起氧化应激失衡、微循环障碍,造成肝功能受损<sup>[11]</sup>。《医宗必读·积聚》:“积之成也,正气不足,而后邪气踞之。”

《金匱要略》:“黄疸之病……反剧者为难治,见肝之病……当先实脾。”中医学认为慢性乙型重型肝炎或因正气不足,湿热疫毒羁蕴于肝脏,湿热毒入侵体内,肝胆抑郁、脾胃受气,造成湿毒无法排出,故治疗以疏肝理气、清热活血、解毒化瘀为主<sup>[12-13]</sup>。

针灸可调整人体各部功能活动,改善患者肝功能,提高细胞免疫能力,而针刺合谷、内关、中脘、天枢、足三里、阴陵泉、上巨虚、三阴交和太冲,具有疏肝利胆、理气止痛、祛湿化痰之效<sup>[14-15]</sup>。疏肝化瘀方遵循汪承柏“凉血活血、重用赤芍”原则,具有清热凉血、散瘀止痛之效,其中赤芍归肝经,具有清热凉血、散瘀止痛之效;桃仁、红花、茜草具有益气养血和营之效;升麻、葛根具有扶正祛邪、行气通络之效;枳壳、木香、茯苓、泽泻、金钱草、茵陈、大黄具有清热解毒、祛湿退黄、补脾益气之效;当归、芍药具有平肝止痛、调和肝脾之效,诸药合用,共奏活血化痰、解毒散结、补益肝肾之功<sup>[16-17]</sup>。现代研究<sup>[18]</sup>表明疏肝化瘀方可清除炎症因子,抑制胆红素再生,改善肝内循环,减轻肝脏炎症性损伤,并可通过多层次、多靶点途径,减轻机体氧化损伤,抑制细胞病理增生。本研究结果显示,联合治疗可提高临床疗效,改善临床症状。其原因可能为疏肝化瘀方可减轻肝细胞损伤,促进肝功能恢复,改善肝细胞代谢,而加用针灸可刺激对应脏腑脾、胃、肝、肾功能,内外兼治,共同发挥疏肝解郁、理气活血、滋阴养血等功效。ALT、AST 可反映肝脏功能,HA、LN 可反映肝纤维化程度<sup>[19-20]</sup>。本研究结果显示,观察组治疗后 ALT、AST、HA、LN 低于对照 A 组和对照 B 组,提示联合治疗可改善肝功能。这是由于联合治疗可调节免疫功能,保护肝细胞。大颗粒淋巴细胞可释放 PRF,可在靶细胞膜形成孔洞,发挥杀伤作用;细胞毒淋巴细胞、NK 细胞可释放 GrzB,其与靶细胞表面受体结合而促使细胞穿孔,进而参与病毒性肝炎肝损伤过程<sup>[21-22]</sup>。本研究结果显示,观察组治疗后外周血淋巴细胞 PRF、GrzB 阳性细胞率高于对照 A 组和对照 B 组,而 HBV-DNA 载量明显降低,提示联合治疗可能通过调节 PRF、GrzB 途径,减轻肝组织炎症性损伤。分析其可能原因为联合治疗可抑制脂质过氧化反应,调节 PRF、GrzB 途径,发挥肝细胞保护作用。

PI3K 激活后聚集于细胞膜,可激活下游 Akt,而 mTOR 属于 Akt 信号分子下游作用靶点,Akt 可直接磷酸化 mTOR<sup>[23]</sup>。PI3K/Akt/mTOR 信号通路可调节肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)增殖、凋亡,改变细胞周期、细胞能量代谢,影响肝纤维化发生过程<sup>[24]</sup>。本研究结果显示,观察组治疗后外周血 PI3K、Akt、mTOR mRNA 水平低于对照 A 组和对照 B 组。已知疏肝化瘀方中葛根等中药成分可调节 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,抑制人支气管上皮细胞凋亡<sup>[25]</sup>。针灸治疗可调节 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 信号通路参与动脉狭窄等病理过程<sup>[26]</sup>。由此推测联合治疗可能通过调节 PI3K、Akt、mTOR 信号通路,调控 HSCs 增殖、侵袭等生物学行为,影响 ECM 蛋白酶表达,抑制肝纤维化形成,减缓慢性乙型重型肝炎发展进程。同时本研究发现联合治疗期间 3 组治疗期间均未出现不良反应,提示联合治疗具有一定安全性。

综上所述,针药并用治疗慢性乙型重型肝炎疗效显著,可改善临床症状,抑制肝纤维化、病毒性肝炎肝损伤,其作用机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关。

## 参考文献

- [1] WANG J, DING W, LIU J, *et al.* Association of coexistent hepatitis B surface antigen and antibody with severe liver fibrosis and cirrhosis in treatment-naïve patients with chronic hepatitis B[J]. *JAMA Netw Open*, 2022(6): e2216485.
- [2] ZHAO X A, WANG J, WEI J, *et al.* Gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio predicts liver injury in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients with normal alanine aminotransferase[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2022(2): 247-253.
- [3] JI D, CHEN Y, BI J, *et al.* Entecavir plus Biejia-Ruangan compound reduces the risk of hepatocellular carcinoma in Chinese patients with chronic hepatitis B[J]. *J Hepatol*, 2022(6): 1515-1524.
- [4] KONG Z, LIANG N, YANG G L, *et al.* Acupuncture for chronic hepatitis B[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2019(8): CD013107.
- [5] 张禹, 黄秋思, 刘定, 等. 疏肝化瘀益气法对肝纤维化大鼠 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 表达的影响[J]. 吉林中医药,

- 2020 (2) :230-233.
- [6] LEE S W, KIM S M, HUR W, *et al.* Tenofovir disoproxil fumarate directly ameliorates liver fibrosis by inducing hepatic stellate cell apoptosis via downregulation of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2021 (12) :e0261067.
- [7] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2019 (12) :938-961.
- [8] 中华中医药学会肝胆病分会. 病毒性肝炎中医辨证标准(2017 年版)[J]. 中西医结合肝病杂志, 2017 (3) :193-194.
- [9] 中华中医药学会内科肝胆病学组, 世界中医药联合学会肝病专业委员会, 中国中西医结合学会肝病分会. 慢性乙型肝炎中医诊疗专家共识[J]. 临床肝胆病杂志, 2012 (3) :164-168.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则(试行)[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2002:65.
- [11] WANG F, SUN W, XIAO Q, *et al.* Peripheral T lymphocytes predict the severity and prognosis in patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021 (5) :e24075.
- [12] WANG T, JIN W, HUANG Q, *et al.* Clinical efficacy and safety of eight traditional chinese medicine combined with entecavir in the treatment of chronic hepatitis b liver fibrosis in adults: a network meta-analysis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020:7603410.
- [13] AILIOAIE L M, LITSCHER G. Curcumin and photobiomodulation in chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2020 (19) :7150.
- [14] LI Z, CAO H, YAO M, *et al.* Effect of acupuncture combined with Shenqi Yigan decoction on liver function and T cell subsets in patients with HBV-induced liver fibrosis[J]. *Am J Transl Res*, 2021 (4) :3409-3417.
- [15] 覃秀容, 陈月桥, 石清兰, 等. 慢性乙型病毒性肝炎的中医药治疗研究进展[J]. 中医药学报, 2020 (7) :66-71.
- [16] 杨天翼, 宗湘裕. 活血化瘀、健脾疏肝法治疗慢性萎缩性胃炎胃络瘀阻证的临床研究[J]. 国际中医中药杂志, 2023 (5) :558-562.
- [17] 韩中颖, 祝峻峰. 软肝化瘀方联合恩替卡韦对慢性乙型肝炎后肝纤维化患者肝功能及血清学指标的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2021 (9) :979-982.
- [18] 房莹莹, 战晶玉, 闫晓明, 等. 疏肝化瘀方治疗慢性乙型肝炎相关性肝纤维化的疗效及对血清 Treg/Th17 的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2021 (18) :1954-1957.
- [19] ATILLA A, TASKIN M H, KAZAK Z, *et al.* GP73 level in patients with chronic hepatitis B: relationship with liver biopsy, levels of ALT, AST and HBV DNA[J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2022 (1) :55-58.
- [20] LIAO Y, GONG J, ZHOU W, *et al.* Serum liver fibrosis markers discriminate significant liver inflammation in chronic hepatitis B patients with normal or near-normal alanine aminotransferase[J]. *J Med Virol*, 2019 (4) :642-649.
- [21] WU J, HE B, MIAO M, *et al.* Enhancing natural killer cell-mediated cancer immunotherapy by the biological macromolecule nocardia rubra cell-wall skeleton[J]. *Pathol Oncol Res*, 2022, 28:1610555.
- [22] 詹怀勇, 梁平, 秦东平. 疏肝理气方联合恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎疗效观察[J]. 海南医学, 2021 (13) :1648-1651.
- [23] DINIZ P H C, SILVA S D C, VIDIGAL P V T, *et al.* Expression of MAPK and PI3K/AKT/mTOR proteins according to the chronic liver disease etiology in hepatocellular carcinoma[J]. *J Oncol*, 2020:4609360.
- [24] GUAN H, ZHU N, TANG G, *et al.* DNA methyltransferase 1 knockdown reverses PTEN and VDR by mediating demethylation of promoter and protects against renal injuries in hepatitis B virus-associated glomerulonephritis[J]. *Cell Biosci*, 2022 (1) :98.
- [25] WANG L, JIANG W, WANG J, *et al.* Puerarin inhibits FUNDC1-mediated mitochondrial autophagy and CSE-induced apoptosis of human bronchial epithelial cells by activating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2022 (3) :1253-1264.
- [26] 周海纯, 宋志强, 韩晓庆, 等. 颈通康通过 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 信号通路减轻大鼠颈动脉狭窄机制研究[J]. 辽宁中医杂志, 2022 (12) :194-198.

收稿日期 2024-02-22