

# 肝纤维化治疗策略的研究进展

方未英 徐 兰 顾婷玉 刘 毅 陈跃磊

**摘 要** 肝纤维化是由于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)特别是胶原蛋白的过度沉积而引起的慢性肝脏疾病。如果没有得到及时治疗,肝纤维化将会导致肝硬化甚至肝衰竭,严重威胁患者生命。目前,治疗肝纤维化的主要策略包括治疗原发疾病、调节 ECM 的合成和降解、改善肝实质细胞损伤及凋亡、基因治疗等。

**关键词** 肝纤维化 发病原因 发病机制 诊断方法 治疗策略

中图分类号 R575

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.04.002

肝纤维化是指由慢性炎症和多种致病因子导致结缔组织在肝脏内异常增生,是多种慢性肝病病理发生过程的重要特征<sup>[1]</sup>。长期性肝纤维化会促进纤维基质堆积,破坏肝脏的正常功能和结构,如果不能及时医治,长期发展会转变成晚期肝纤维化,最终导致肝硬化、肝衰竭、门脉高压等严重的并发症<sup>[2]</sup>。在中国多种肝病高发,肝纤维化作为肝病研究和治疗的重点领域,受到广泛关注。本文将详细介绍肝纤维化的发病原因、发病机制、诊断方法和治疗策略。

## 一、肝纤维化的发病原因

肝纤维化常见的发病原因包括:过量的酒精摄入、慢性乙型和丙型肝炎病毒感染、自身免疫系统疾病引起的肝脏损伤、胆管阻塞、过度肥胖、寄生虫感染等。如果肝纤维化没有得到及时的治疗,致病因素长期不能去除,随着时间的推移极有可能恶化成肝硬化和肝癌。然而在多种慢性肝病和动物模型中证实肝纤维化是可逆的,对肝损伤和慢性肝病患者采取及时的针对性治疗具有缓解肝损伤及炎症反应,逆转肝纤维化的作用。

## 二、肝纤维化的发病机制

肝脏由肝实质细胞和非实质细胞组成,肝实质细胞是指具有肝功能的单位,是肝脏的基本组成单位之一,肝细胞是唯一的肝实质细胞。非实质细胞主要包括肝窦内皮细胞、库普弗细胞、肝星状细胞、贮脂细胞和陷窝细胞。肝纤维化的发生过程是慢性肝损伤后炎性淋巴细胞浸润肝实质细胞,引起肝实质细胞凋

亡,激活枯否细胞分泌纤维发生介质,同时激活原本处于静止状态的肝星状细胞转变为纤维母细胞同时分泌大量的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)。过度分泌的 ECM 在肝血窦间隙聚集造成异常累积,破坏肝脏的正常结构,使其发生异常病理变化。肝窦内皮细胞的窗孔式排列形态被破坏,肝星状细胞的紧张性收缩造成肝血窦内血流受阻,出现门腔高压,造成肝淤血,破坏肝功能和正常的新陈代谢,最终导致肝纤维化<sup>[2]</sup>。

## 三、肝纤维化的诊断方法

肝纤维化是一个慢性、可逆的发病过程,及时、准确的诊断对于预防肝纤维化发展为肝硬化、肝衰竭、肝癌具有重要意义。目前肝纤维化的诊断方法主要分为肝脏活检;血清学指标检测包括直接和间接血清标志物检测;影像学检测包括二维超声检查(ultrasound, US)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、瞬时弹性超声(transient elastography, TE)、磁共振弹性成像(magnetic resonance elastography, MRE)。根据患者病症选择一种或几种检测方法结合使用可以大大提高诊断精度,便于选择合适的治疗策略尽早进行有效干预。

## 四、肝纤维化的治疗策略

目前,治疗肝纤维化的主要策略包括治疗原发疾病、调节 ECM 的合成和降解、改善肝实质细胞损伤及凋亡、基因治疗以及干细胞移植 6 个方面。

1. 治疗原发疾病:祛除病因对肝纤维化治疗至关重要,有大量医学证据表明祛除病因本身可以逆转肝纤维化,降低发展为肝硬化、肝癌的风险。

(1) 治疗酒精性肝纤维化:酒精性肝纤维化是由于长期大量饮酒导致的肝脏疾病,由最初的脂肪肝发

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81470862);中国科学院战略生物资源服务网络计划项目(ZSSB-003,CZBZX-1)

作者单位:200031 中国科学院上海生命科学研究院/中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库/干细胞库

通讯作者:陈跃磊,正高级工程师,电子信箱:chenyl@sibcb.ac.cn

展而来。治疗核心是帮助患者严格控制乙醇摄入量的同时加强营养支持,能够明显减轻酒精性肝病的症状,减缓其发展速度,多数患者预后良好,肝纤维化得到逆转。维生素 E 具有抗氧化活性,能够防止脂肪过氧化反应及蛋白质氧化,增加维生素 E 的摄入可以减少长期酒精摄入引起的肝脏组织中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 前体的表达,对抗酒精性肝损伤<sup>[3]</sup>。褪黑色素在有效减少血清、组织中 TNF- $\alpha$  的表达量的同时也能减少肝脏组织中脂肪过氧化反应和嗜中性粒细胞对肝实质细胞的浸润,通过减少促炎细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  来抑制 MMP-9 前体的合成,通过负调节基质金属蛋白酶组织抑制剂 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase 1, TIMP1) 来降低 MMP-9 的活性,对急性酒精性肝损伤具有保护作用<sup>[4]</sup>。

(2) 治疗非酒精性脂肪性肝病:非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 患者通过运动、改善饮食结构等措施控制体重、减少热量摄入可以明显改善病症,对 293 例 NAFLD 患者进行改善生活方式 52 周的治疗,发现体重减轻 10% 以上的患者,其肝脏组织学特征有明显改善,且与体重减少比例呈正比<sup>[5]</sup>。NAFLD 的治疗药物集中在抗氧化剂如维生素 E,胰岛素增敏剂如吡格列酮和二甲双胍,降脂药物如他汀类药物等,尚缺乏特异性药物。对 247 例无糖尿病的非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 患者提供吡格列酮和维生素 E 治疗 96 周,发现与安慰剂对照组比较,药物组多项 NASH 相关指标明显改善<sup>[5]</sup>。

(3) 治疗乙型、丙型肝炎肝纤维化:除酒精性肝纤维化外,慢性乙型、丙型肝炎肝纤维化是中国肝纤维化原发疾病的主要发病因素。慢性乙型、丙型肝炎肝纤维化患者进行长期有针对性的抗病毒治疗,均可以有效减轻并发症并缓解临床表现和组织表象。在乙肝治疗中常使用核苷类似物抑制乙肝病毒聚合酶活性来达到抑制病毒复制的目的。替诺福韦艾拉酚胺 (tenofovir alafenamide, TAF) 作为一种新型的慢性乙肝治疗药物,通过乙肝病毒逆转录酶掺入乙肝病毒的 DNA 链中,有效抑制乙肝病毒复制,对乙肝病毒的抑制率可达 73%,高效且低耐药性,对肾脏危害小且对骨密度降低具有良好的保护作用<sup>[6]</sup>。此外,干扰素治疗可以增强宿主的免疫反应,有效提高 HBeAg 血清学转换率,降低肝硬化和肝癌的发生率。干扰素

$\alpha$ -2b 和核苷类似物恩替卡韦的联合用药对治疗乙型肝炎肝纤维化临床疗效明显,可以有效降低患者血清 ALT、HBV-DNA 和 HBeAg 水平,抑制机体乙肝病毒复制率,促使肝功能恢复<sup>[7]</sup>。

在慢性丙肝治疗中,干扰素由于其良好的抗病毒性且低复发率,不易产生耐药性,是慢性丙肝的普遍治疗用药,但是长期使用会发生流感样症候群、消化系统症状等不良反应<sup>[8]</sup>。随着研究的深入,无需联合干扰素就能安全有效治疗慢性丙肝的药物应运而生,伊柯鲁沙 (epclusa) 作为一种泛基因型丙肝新药,是索非布韦 (sofosbuvir) 和维帕他韦 (velpatasvir, VEL) 的复合片剂,可用于治疗 1~6 型丙型肝炎,通过抑制丙肝病毒复制所需 NS5A 和 NS5B 蛋白酶合成来中止乙肝病毒 RNA 的复制。在临床试验中证实服用后患者对丙肝病毒的持续应答率可以达到 99%<sup>[9]</sup>。

2. 调节 ECM 的合成和降解:ECM 是以多糖和纤维蛋白为主的细胞分泌物,参与调节细胞的增殖、分化、形态、黏附、迁移等多项重要的生理活动。活化的肝星状细胞是产生 ECM 最主要的细胞。正常情况下肝星状细胞在肝脏中处于静止状态,它位于肝血窦腔内,肝实质细胞被炎性淋巴细胞浸润后,激活肝星状细胞开始大量增殖。活化的肝星状细胞产生大量的 ECM,影响细胞增殖、分化、迁移等多项功能活动。通过抑制肝星状细胞活化及增殖,促进肝星状细胞凋亡和降解都能有效减少 ECM 合成,进而抑制肝纤维化的发生。此外,MMPs 和 TIMPs 间的平衡对 ECM 的合成和沉积也起到了重要作用。

小分子嘌呤衍生物 reversine 可以诱导肝星状细胞形态发生改变,使肝星状细胞细胞周期停滞在 G2/M 期,抑制其增殖。Reversine 在上调 caspase 信号通路中 caspase-3 蛋白表达的同时还下调了线粒体通路中 bcl-2 蛋白的表达,两者都能有效促进肝星状细胞凋亡,此外还可抑制转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 信号通路来减少肝星状细胞的活化,加速 I 型胶原 (type I collagen, Col I) 的降解,减少 TIMP1 和 TGF- $\beta$ 1 蛋白,促进纤维化的逆转<sup>[10]</sup>。存在于多种水果和药用植物中的乌索酸 (ursolic acid, UA) 通过阻断 ERK、PI3K/Akt 和 p38 MAPK 信号通路的激活来抑制大鼠肝星状细胞的活化<sup>[11]</sup>。同时下调肝星状细胞中的核转录因子 kappa B 和蛋白激酶 B 的活性来促进活化的肝星状细胞凋亡,减缓肝纤维化进程的发生<sup>[12]</sup>。研究表明吡非尼

酮(pirfenidone)能有效降低热休克蛋白-47(heat shock protein-47, HSP47)的表达进而减少Col I和Col III的异常累积,并通过调节TGF- $\beta$ 信号通路活性来下调Col I、TIMP-1、MMP2的表达,有效减少70%胶原沉积量,并抑制肝星状细胞增殖、血清转氨酶水平,防止肝细胞气球样变性<sup>[13,14]</sup>。

3. 改善肝实质细胞损伤及凋亡:肝实质细胞占肝脏细胞总数80%以上,是肝脏内数量最多的细胞。慢性肝损伤后炎症反应引发持续性的肝实质细胞损伤,肝实质细胞损伤后发生活化、变性,细胞极性丢失,转而获得侵袭性,同时产生一系列转录因子,激活Hedgehog和Wnt信号通路,激活静息状态下的肝星状细胞,大量分泌ECM。此外,肝实质细胞凋亡后留下的细胞间隙也将迅速被ECM和胶原所填充,加速肝纤维化的进程。因此,改善肝实质细胞损伤及凋亡是抑制肝纤维化发生的有效方法。在小鼠肝纤维化模型中,sorafenib可以有效抑制TGF- $\beta$ 诱导的肝实质细胞凋亡,并扼制肝实质细胞发生上皮-间质变化并向成纤维细胞及肌成纤维细胞转化,改善肝纤维化症状<sup>[15]</sup>。黄芪总提取物对肝实质细胞具有抗凋亡和抗氧化作用,可以降低D-氨基半乳糖和脂多糖升高的小鼠肿瘤坏死因子水平和肝脏丙二醛含量,并明显升高肝实质细胞线粒体内的锰-超氧化物歧化酶活性,对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>引起的肝实质细胞增殖减缓和肝细胞丙二醛含量升高都有恢复及降低作用<sup>[16]</sup>。

4. 基因治疗:随着对肝纤维化发生机制的深入研究,利用先进的基因治疗手段也能对肝纤维化进行治疗。针对肝纤维化发生的各个阶段,利用小干扰RNA、核酶、反义核酸、转基因及基因敲除技术在基因水平进行调控,通过抑制肝纤维化发生过程中重要基因的表达,达到有效减缓肝纤维化发生进程的目的。HNF4 $\alpha$ 在正常肝组织细胞中高表达,其在肝纤维化发生过程中表达量降低。过表达HNF4 $\alpha$ 的腺病毒载体进入肝组织细胞内可以上调细胞功能性基因的表达,抑制肝纤维化的发展,还可以逆转活化的肝星状细胞向上皮细胞转化<sup>[17,18]</sup>。在CCl<sub>4</sub>诱导的肝纤维化小鼠模型中,利用表达肝脏转录因子的腺病毒载体6(adeno-associated virus6, AAV6)可以将小鼠体内活化的肌成纤维细胞重编程为肝实质细胞,重新表达肝实质细胞的功能,抑制肝纤维化的发生<sup>[19]</sup>。

5. 干细胞移植:在晚期肝病的治疗中,干细胞移植作为一种能够有效改善肝脏再生的治疗方法,引起广泛关注。间充质干细胞属于多能干细胞,由于其来

源丰富,易于分离及体外扩增,并具有免疫调节及自我更新能力,被大量运用于肝纤维化治疗。与骨髓、脐带间充质干细胞相比,月经血间充质干细胞由于其简单、安全、无痛、无伦理问题的特点在治疗肝纤维化中也具有明显优势。在肝纤维化小鼠体内移植后2周发现月经血间充质干细胞能够显著改善肝功能,减少胶原蛋白沉积,通过分泌单核细胞趋化蛋白1、白介素6、白介素8、肝细胞生长因子、骨保护素来抑制肝星状细胞的激活<sup>[20]</sup>。利用人羊膜间充质干细胞在CCl<sub>4</sub>大鼠体内移植后发现其可以显著减少纤维化区域、ColII沉积,抑制 $\alpha$ -SMA阳性肝星状细胞、CD68阳性的库普弗细胞的生长,改善肝纤维化的发生<sup>[21]</sup>。

6. 其他:其他治疗方法如调控与纤维化有关的细胞因子、调节纤溶酶系统活性、抗氧化剂的研究、中药疗法中通过有效单体药或复方制剂的联合使用均能起到保护肝组织,抑制肝纤维化的发生<sup>[22-24]</sup>。

## 五、展 望

中国是肝病大国,多种肝病高发,肝纤维化作为肝病研究和治疗的重要领域,越来越受到重视。肝纤维化发病原因和机制的研究为肝纤维化治疗提供了理论基础,肝脏活检、血清学指标检测、影像学检测等诊断方法的不断发展也为肝纤维化病程的早期发现和诊断提供了高效、精确的检测手段。

综上所述,将基础研究转化为有效的治疗方法及药物需要大量的研究投入,TAF和Epclusa目前已被美国FDA批准用于乙型、丙型肝炎的治疗,但仍有大部分药物还处于动物实验或临床试验阶段。不过相信随着临床实验和研究的深入,各种治疗方法和治疗药物将得到不断完善,并最终投入于临床应用,为肝纤维化治疗提供切实有效的帮助。

## 参 考 文 献

- Weiskirchen R, Tacke F. Liver fibrosis: from pathogenesis to novel therapies [J]. Dig Dis, 2016, 34(4):410-422
- Battaller R, Brenner DA. Liver fibrosis [J]. J Clin Investigat, 2005, 115(2):209-218
- Koken T, Gursoy F, Kahraman A. Long-term alcohol consumption increases pro-matrix metalloproteinase-9 levels via oxidative stress [J]. J Med Toxicol, 2010, 6(2):126-130
- Mishra A, Paul S, Swarnakar S. Downregulation of matrix metalloproteinase-9 by melatonin during prevention of alcohol-induced liver injury in mice [J]. Biochimie, 2011, 93(5):854-866
- 张文斌,张海月,焦方舟,等.非酒精性脂肪性肝病的治疗进展 [J]. 医学研究杂志, 2018, 3:150-152
- 张文娟,张静洁,郑志兵.乙肝治疗新药——替诺福韦艾拉酚胺半富马酸 [J]. 临床药物治疗杂志, 2017, 15(3):10-13

- 7 陈春林, 孙晓东, 王雪微. 恩替卡韦联合干扰素对乙型肝炎病毒感染临床疗效研究[J]. 北方药学, 2016, 13(4):68-69
- 8 吴桂香, 张海燕, 高清花, 等. 干扰素治疗丙肝后发生不良反应的护理要点[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(2):142-143
- 9 王娇, 刘光忠. 新型丙肝治疗药物 Epclusa 概述[J]. 中国药师, 2017, 20(3):543-547
- 10 Huang Y, Huang D, Weng J, *et al.* Effect of reversine on cell cycle, apoptosis, and activation of hepatic stellate cells [J]. *Mole Cell Biochem*, 2016, 423(1):9-20
- 11 Yu SS, Chen B, Huang CK, *et al.* Ursolic acid suppresses TGF- $\beta$ 1-induced quiescent HSC activation and transformation by inhibiting NADPH oxidase expression and Hedgehog signaling [J]. *Exp Therapeut Med*, 2017, 14(4):3577-3582
- 12 Wang X, Ikejima K, Kon K, *et al.* Ursolic acid ameliorates hepatic fibrosis in the rat by specific induction of apoptosis in hepatic stellate cells[J]. *J Hepatol*, 2011, 55(2):379-387
- 13 Xiang XH, Jiang TP, Zhang S, *et al.* Pirfenidone inhibits proliferation, arrests the cell cycle, and downregulates heat shock protein47 and collagen type I in rat hepatic stellate cells in vitro[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1):309-314
- 14 Seniutkin O, Furuya S, Luo YS, *et al.* Effects of pirfenidone in acute and sub-chronic liver fibrosis, and an initiation-promotion cancer model in the mouse[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 339(1):1-9
- 15 Rui M, Jiang C, Liang Y, *et al.* Sorafenib: a potential therapeutic drug for hepatic fibrosis and its outcomes[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88(1):459-468
- 16 杨雁, 陈敏珠. 黄芪总提取物对肝细胞凋亡的抑制作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2001, 15(4):287-292
- 17 Li Y, Zalzal M, Jadhav K, *et al.* Carboxylesterase 2 prevents liver steatosis by modulating lipolysis, ER stress and lipogenesis and is regulated by HNF4 $\alpha$ [J]. *Hepatology*, 2016, 63(6):1860-1874
- 18 Yue HY, Yin CJ, Zeng X, *et al.* Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  attenuates hepatic fibrosis in rats[J]. *Gut*, 2010, 59(2):236-246
- 19 Rezvani M, Español-Suñer R, Malato Y, *et al.* In vivo hepatic reprogramming of myofibroblasts with AAV vectors as a therapeutic strategy for liver fibrosis[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 18(6):809-816
- 20 Chen L, Zhang C, Chen L, *et al.* Human menstrual blood-derived stem cells ameliorate liver fibrosis in mice by targeting hepatic stellate cells via paracrine mediators[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(1):272-284
- 21 Kubo K, Ohnishi S, Hosono H, *et al.* Human amnion-derived mesenchymal stem cell transplantation ameliorates liver fibrosis in rats [J]. *Transplantation Direct*, 2015, 1(4):1-9
- 22 Souzacruz SD, Victória MB, Tarragô AM, *et al.* Liver and blood cytokine microenvironment in HCV patients is associated to liver fibrosis score: a proinflammatory cytokine ensemble orchestrated by TNF and tuned by IL-10[J]. *BMC Microbiol*, 2016, 16(1):1-12
- 23 Rehman H, Liu Q, Krishnasamy Y, *et al.* The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ attenuates liver fibrosis in mice[J]. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 2016, 8(1):14-27
- 24 Wang BY, Zhao W, Niu XM, *et al.* Mechanism of action of Yiqi Huoxue recipe in regulating autophagy and reversing liver fibrosis[J]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi*, 2017, 25(5):365-370  
(收稿日期:2018-07-18)  
(修回日期:2018-07-30)

(上接第 5 页)

- 19 冯绍华, 邢双, 杨立顺, 等. 血清 microRNA 在自身免疫性甲状腺疾病中的潜在诊断价值[J]. 免疫学杂志, 2015, 31(8):687-691
- 20 Yamada H, Itoh M, Hiratsuka I, *et al.* Circulating microRNAs in autoimmune thyroid diseases[J]. *Clin Endocrinol*, 2014, 81(2):276-281
- 21 Dorris Emma R, Paul S, O'Leary JJ, *et al.* MIR141 expression differentiates Hashimoto thyroiditis from PTC and benign thyrocytes in irish archival thyroid tissues[J]. *Front Endocrinol*, 2012, 3:102
- 22 Zhu J, Zhang Y, Zhang W. MicroRNA-142-5p contributes to Hashimoto's thyroiditis by targeting CLDN1[J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1):166
- 23 Bernecker C, Lenz L, Ostapczuk MS, *et al.* MicroRNAs miR-146a1, miR-155\_2, and miR-200a1 are regulated in autoimmune thyroid diseases[J]. *Thyroid*, 2012, 22(12):1294-1295
- 24 刘通, 于振乾, 邹红锦, 等. MicroRNA-155 在碘致 NOD.H-2h4 小鼠自身免疫性甲状腺炎发病中的变化研究[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(7):936-941
- 25 刘咏萍. MicroRNA\_326 调节 ADAM17 促进 Th17 细胞分化参与桥本甲状腺炎发病的研究[D]. 沈阳:中国医科大学, 2018
- 26 陈敏. 血清 microRNA-155 与桥本甲状腺炎的相关性[D]. 南昌:南昌大学, 2016
- 27 余洋, 卢桂芝, 高莹, 等. IgG4 阳性桥本甲状腺炎[J]. 中华内科杂志, 2017, 56(5):381-384
- 28 Zhang J, Zhao L, Gao Y *et al.* A classification of Hashimoto's thyroiditis based on immunohistochemistry for IgG4 and IgG [J]. *Thyroid*, 2014, 24(2):364-370
- 29 Suzuki HI. MicroRNA control of TGF-beta signaling[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7):1901
- 30 雒毅强, 张广. 桥本甲状腺炎合并甲状腺乳头状癌诊断进展[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(4):735-738
- 31 张顺霞, 李淑霞, 王江, 等. 人桥本甲状腺炎甲状腺组织中 miRNAs 表达谱的差异性分析[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(36):7171-7174
- 32 Otsu H, Watanabe M, Inoue N, *et al.* Intraindividual variation of microRNA expression levels in plasma and peripheral blood mononuclear cells and the associations of these levels with the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(5):626-635
- 33 Takuse Y, Watanabe M, Inoue N, *et al.* Association of IL-10-Regulating MicroRNAs in peripheral blood mononuclear cells with the pathogenesis of autoimmune thyroid disease[J]. *Immunol Investigat*, 2017, 46(6):590-602  
(收稿日期:2019-01-10)  
(修回日期:2019-01-12)