

肝豆状核变性中西医研究进展

杨悦¹, 杨文明^{2,3*}, 汪瀚^{1,2}, 李祥^{1,2}, 黄鹏^{1,2}, 江海林², 郝文杰¹, 杨玉龙¹

- (1. 安徽中医药大学 研究生院, 合肥 230038;
2. 安徽中医药大学 第一附属医院, 合肥 230031;
3. 新安医学教育部重点实验室, 合肥 230038)

[摘要] 肝豆状核变性(WD)是由于ATP7B基因突变导致的铜代谢障碍性疾病,临床表型丰富多样,发病机制异常复杂,属于少数经过积极规范治疗可以取得较好临床疗效的罕见病。目前国内有关本病的系统性综述较少,笔者通过查阅与WD相关国内外文献,从中医学和西医学两个层面对WD的发病机制和治疗方法进行总结归纳。总得来看,西医认为ATP7B基因突变是本病发生的根本原因,ATP7B基因突变可影响机体铜转运功能,造成铜代谢障碍,过量铜沉积于体内,促使氧化应激发生、导致线粒体功能缺陷、引起细胞死亡等等。目前WD常用的西医治疗方法仍以药物为主,驱铜药物是临床首选,常联合保肝及抗氧化治疗,手术治疗是慢性肝病终末期WD患者常用的方式,而基因治疗为WD患者提供了可能的潜在选择。而中医则认为,先天禀赋不足,铜毒蓄积是本病根本病因,湿热内蕴、痰瘀互结为主要病机,在疾病的不同阶段,病机有所不同,临证当予以明辨。目前中医药治疗主要以滋补肝肾、温补脾肾治其本,清热利湿、化痰祛瘀、疏肝理气治其标,标本同治,方为根本。在辨证论治的基础上,形成了治疗WD的专病专方,如肝豆灵、肝豆汤、肝豆扶木汤,在临床得到了广泛的运用。中、西医各有优势,又各有不足,中西医并重,优势互补,强强结合。因此,中西医结合的WD治疗方案被逐渐推广和应用,展现出巨大的治疗潜力。该文通过对WD的中西医病因病机及治疗进行归纳梳理,以期为该病的临床诊治提供参考。

[关键词] 肝豆状核变性; 中西医; 发病机制; 治疗方法

[中图分类号] R242;R969.4;R256.4;R856.5;R2-031;R742.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2024)04-0209-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20232292

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20230803.1023.001>

[网络出版日期] 2023-08-04 10:30:41

Wilson's Disease in Traditional Chinese and Western Medicine: A Review

YANG Yue¹, YANG Wenming^{2,3*}, WANG Han^{1,2}, LI Xiang^{1,2}, HUANG Peng^{1,2},
JIANG Hailin², HAO Wenjie¹, YANG Yulong¹

- (1. Graduate School, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China;
2. The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China;
3. Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Hefei 230038, China)

[Abstract] Wilson's disease (WD) is a copper metabolism disorder caused by mutations in the ATP7B gene, with diverse phenotypes and complex pathogenesis. It is one of the few rare diseases that can achieve good clinical efficacy through standardized treatment. Since there are few systematic reviews of this disease, we summarize the pathogenesis and treatment methods of WD from traditional Chinese and western medicine by

[收稿日期] 2023-02-12

[基金项目] 国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目(U22A20366);国家自然科学基金面上项目(81973825);国家中医药管理局中医药循证能力建设项目(2019XZZX-NB001);安徽高校协同创新项目(GXXT-2020-025)

[第一作者] 杨悦,在读博士,从事中西医结合防治肝豆状核变性研究,E-mail:yang0419y@163.com

[通信作者] *杨文明,博士,教授,主任医师,博士生导师,从事中西医结合防治肝豆状核变性,Tel: 0551-62838522, E-mail: yangwm8810@126.com

reviewing the literature related to WD. In western medicine, ATP7B gene mutation is considered as the root cause of WD, which affects copper transport and causes copper metabolism disorders. The excessive copper deposited in the body will result in oxidative stress, defects in mitochondrial function, and cell death. Western medicine treatment of WD relies mainly on drugs, and copper antagonists are the first choice in clinical practice, which are often combined with hepatoprotective and antioxidant therapy. Surgery is a common therapy for the patients with end-stage WD, and gene therapy provides an option for WD patients. According to the traditional Chinese medicine (TCM) theory, WD is rooted in constitutional deficiency and copper accumulation and triggered by dampness-heat accumulation or phlegm combined with stasis. The patient syndrome varies in different stages of the disease, and thus the treatment should be based on syndrome differentiation. The TCM treatment method of nourishing the liver and kidneys and warming the spleen and kidneys can address the root cause. The methods of clearing heat and drying dampness, resolving phlegm and dispelling stasis, and soothing liver and regulating qi movement can be adopted to treat symptoms. On the basis of syndrome differentiation, special prescriptions for the treatment of WD have been formulated, such as Gandou decoction, Gandouling, and Gandou Fumu decoction, which have been widely used in clinical practice. TCM and western medicine have their own advantages and shortcomings. The integrated Chinese and western medicine complementing with each other demonstrates great therapeutic potential. This paper summarizes the pathogenesis and treatment of WD with integrated Chinese and western medicine, aiming to provide a reference for the clinical diagnosis and treatment of this disease.

[Keywords] Wilson's disease; traditional Chinese and Western medicine; pathogenesis; treatment

肝豆状核变性(WD)是由于ATP7B基因突变导致的铜代谢障碍性疾病,临床表型丰富多样,涉及消化、神经、泌尿、内分泌等多个系统^[1]。流行病学资料显示,本病的患病率为1:50 000~1:30 000,我国发病率高于其他国家和地区^[2]。WD属于少数经过积极规范治疗可以取得较好临床疗效的罕见病,因此重视WD的研究具有重要的理论意义及现实意义。虽然WD的致病基因早已被定位克隆,但不同突变的作用机制及铜离子如何参与WD疾病进展仍有待进一步研究。目前临床上西医仍以青霉胺等重金属螯合剂为主,但驱铜药的应用往往导致病情恶化、过敏反应、免疫损伤、骨髓抑制等不良反应,限制了其临床进一步应用,是临床亟待解决的难题。而中医学作为祖国医学的瑰宝,中医药防治WD由来已久,具有独特的作用与优势。目前国内有关本病的系统性综述较少,本文通过检索相关文献,从中西医两个方面对WD病因、发病机制及治疗进展进行全面综述,以期为该病的临床治疗提供借鉴。

1 西医病因及发病机制

1.1 西医病因 回顾WD的百年研究历程,人们对于WD的病因学认识经历漫长过程。20世纪初(1900s),科学家们就已认识到本病的发生可能与重金属银、钼或铜沉积有关。后来发现铜代谢异常为

本病的核心病因,并围绕机体铜过量蓄积提出了铜吸收增加、肝组织对铜的结合力增加、胆汁排铜障碍和铜蓝蛋白合成障碍几种学说^[3]。直到20世纪末(1993),确定本病是一种常染色体隐性遗传病,且将致病基因定位于ATP7B,揭开了本病病因之谜^[4]。研究表明,ATP7B基因突变会影响相应蛋白功能,导致部分甚至全部铜转运功能丧失,引起血清铜蓝蛋白降低及胆汁铜排泄减少,肝细胞内铜离子大量蓄积,最终造成机体一系列损伤^[5]。但是随着研究深入,发现一些其他基因如PNPLA3、ApoE、COMMD1等对WD表型可能具有贡献^[6-8]。此外,有临床病例报道WD纯合子双胞胎可表现出不同的临床表型,提示环境或营养等其他因素也可能影响WD表型^[9-10]。

1.2 发病机制 ATP7B基因突变是本病发生根本原因,铜代谢障碍是基因突变的固有结果,过量铜毒性作用引发的组织病理改变是产生各种临床症状的主要原因。ATP7B基因突变的机制及铜在体内介导的病理过程十分复杂,涉及多通路、多途径共同参与。

1.2.1 ATP7B突变机制 研究指出,有一部分ATP7B错义突变的铜转运能力并未完全丧失。错义突变会造成自身蛋白构象变化,导致其在细胞内无法正确地转运及定位,铜无法正常排出,铜在

细胞内不断聚集引发机体损伤^[11]。进一步研究发现, ATP7B^{H1069Q}能激活 p38 和 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 信号通路, 从而促进细胞内蛋白降解网络识别突变的 ATP7B 蛋白, 促使 ATP7B^{H1069Q} 被迅速降解。若抑制 p38 和 JNK 通路则可以使得这些突变蛋白免于降解, 从而部分恢复 ATP7B 蛋白从内质网向高尔基复合体外侧网络的定位, 促进铜离子排出^[12]。另外有研究表明, 蛋白及结构域之间相互作用之后可引起 ATP7B 催化活性的丧失。如 ATP7B^{G85V} 突变可导致金属离子结合区 1 的错误折叠, 从而严重影响金属离子结合区 1~3 的相互作用, 导致 ATP7B 活性及转运能力受损并加速其自身的降解^[13]。此外, 部分 ATP7B 基因剪接突变可造成整个外显子丢失, 严重影响 ATP7B 蛋白的结构与功能^[14]。

1.2.2 铜毒性机制 生理剂量下, 铜在机体代谢、生长发育和氧化反应中发挥着重要作用。但是当铜离子在机体内过度沉积时, 会通过类芬顿反应而直接催化产生大量活性氧 (ROS), 引起核酸和蛋白质变性, 多糖类物质降解, 甚至造成脂质过氧化, 对机体产生严重的损伤^[15]。因此, ROS 被认为是铜发挥毒性的关键, 氧化应激被认为是与铜毒性的主要机制。临床研究证实, 在 WD 患者中存在与抗氧化酶相关的基因变异, 包括过氧化氢酶和锰超氧化物歧化酶^[16]。铜可通过 ROS 诱导肝细胞焦亡相关基因半胱氨酸蛋白酶 1 表达显著上调, 使用自由基清除剂干预后可显著减缓氧化损伤, 抑制细胞焦亡^[17]。

线粒体作为铜攻击的主要靶标, 在 WD 病程早期肝细胞存在严重线粒体改变, 线粒体功能缺陷被认为是肝细胞中铜逐渐积累的主要后果^[18-19]。铜诱导线粒体损伤的机制主要分为 2 种, 一是铜直接与线粒体相互作用; 二是铜通过改变细胞线粒体功能, 如间接影响线粒体膜通透性、线粒体动态改变及发生线粒体自噬等^[20]。研究发现, 线粒体可以通过释放的细胞色素 C 或通过酸性鞘磷脂酶的活化和神经酰胺的释放触发细胞凋亡, 引起肝组织损伤^[21-22]。最近, TSVETKOV 等^[23]提出铜诱导的细胞死亡由线粒体铁氧还蛋白 1 介导的蛋白质脂酰化调节, 而 WD 作为最经典的铜代谢异常性疾病, 铜死亡可能是解释 WD 发病的新机制。

自噬是一个自我降解的过程, 研究发现 WD 患者和小鼠模型肝组织中的肝细胞具有多个自噬体, 表明自噬是 WD 中常见的细胞死亡方式。转录组测

序结果表明, 在铜累积的不同阶段共同参与细胞自噬和线粒体自噬的调控, 通过诱导肝脏自噬活化可能缓解 WD 肝损伤^[24]。进一步研究发现, 在 ATP7B 敲除细胞中哺乳动物雷帕霉素靶标活性降低, 导致雷帕霉素靶标底物转录因子 EB 易位到细胞核并激活自噬相关基因, 自噬可保护 ATP7B 敲除细胞免受铜诱导死亡^[25]。

1.2.3 表观遗传 表观遗传学作为遗传学的分支, 位于自然与养育的关键交叉点, 允许静态基因组适应动态环境。由于 WD 在发病年龄、严重程度、对治疗的反应及对肝脏与大脑的影响方面存在很大差异, 目前尚未对 WD 中数百种不同致病突变的分析未能找到令人信服的基因型和表型相关性证据。因此, WD 似乎是一种具有明显环境和表观遗传修饰的遗传疾病。

最近, MORDAUNT 等^[26]使用全基因组亚硫酸氢盐测序方法解释 WD 患者肝脏和血液中表观遗传变化, 发现 WD 患者特异性差异甲基化区域富集了肝脏特异性增强子, 具有叶酸和脂质代谢及急性炎症反应功能的基因。此外, 动物实验也证实 WD 的 tx-j 小鼠模型支持 WD 的表观遗传改变。与正常组相比, tx-j 小鼠以 S-腺苷同型半胱氨酸酶基因表达在内的蛋氨酸代谢存在差异, 并在肝病的更晚期阶段整体 DNA 甲基化发生改变^[27]。此外, WD 中过量铜水平可能影响表观遗传的另一种方式是通过线粒体氧化应激途径。有研究指出, ROS 和其他线粒体代谢物对表观遗传层有不利影响, 包括 DNA 甲基化和组蛋白修饰^[28]。

1.3 西医治疗 目前 WD 常用的治疗方法仍以药物为主, 驱铜药物是临床首选, 常联合保肝及抗氧化治疗。手术治疗是慢性肝病终末期 WD 患者常用的方式, 而基因治疗可能是直接解决本病的根本疗法。

1.3.1 药物治疗 驱铜治疗。驱铜药物的原理主要是通过金属络合剂促进铜离子排泄 (如青霉胺、二巯丙磺钠、二巯丁二酸钠等) 或者抑制铜离子吸收药物 (如锌剂等)。上述驱铜药物可以促进尿铜排泄或者阻止胃肠道对铜的吸收, 减少患者体内铜蓄积, 具有一定的临床疗效。除了上述常用的驱铜药物外, 最新研究表明四盐酸盐曲恩汀、双胆碱四硫钼酸盐 (WTX101)、甲烷氧化菌素可能是治疗 WD 有潜力的新药物。近期, 一项关于四盐酸盐曲恩汀治疗 WD 的 III 期临床试验结果表明四盐酸盐曲恩汀作为一种口服维持治疗的驱铜药物临床疗效

不劣于青霉胺,并且在成人WD患者中耐受性良好^[29]。WTX101属于铜蛋白结合剂,其机制是通过与白蛋白形成三方复合物和增加胆汁铜排泄来靶向肝细胞内铜并减少血浆非铜蓝蛋白结合铜^[30]。研究表明,28例经WTX101治疗的WD患者中有20例血浆非铜蓝蛋白结合铜水平降低甚至恢复到正常水平,安全性高,且未观察到神经或者肝脏症状加重^[31]。此外,有研究发现甲烷氧化菌可分泌甲烷氧化菌素,甲烷氧化菌素作为一种铜载体可将铜招募到细胞中,动物实验证明甲烷氧化菌素可有效地消除WD模型大鼠肝、脑组织铜负荷^[32]。

抗氧化、保肝治疗。研究发现,WD患者血浆中维生素E含量低^[33],故有学者提出维生素E具有作为WD抗氧化辅助剂的潜力^[34],并通过长期随访发现辅助维生素E治疗可减少氧化应激并改善临床结局^[35]。谷胱甘肽是临床上常用的解毒类保肝药物,一方面谷胱甘肽活性巯基含量丰富,可与铜离子重金属相结合,发挥解毒作用;另一方面通过抗氧化途径发挥保肝作用,故常用于WD患者,特别是WD伴有肝损伤患者^[36]。此外,有研究表明原型谷胱甘肽可提高抗氧化应激水平,改善WD患者的神经系统症状^[37]。硫普罗宁作为另一种含巯基甘氨酸类保肝药物,临床研究表明硫普罗宁治疗后可以显著WD患者增加24h尿铜排泄,改善患者肝功能^[38],并通过动物实验证实硫普罗宁治疗WD疗效可靠^[39]。

1.3.2 手术治疗 肝脏是铜代谢的主要器官,慢性肝病通常是WD患者最常见的表现。当铜在肝脏持续蓄积,不仅会引起肝硬化、门静脉高压、食管胃底静脉曲张等,发展为脾肿大和脾功能亢进,最终导致肝衰竭。针对上述情况,常用的手术方式有脾切除术、脾栓塞、肝移植等。但有关外科辅助治疗WD的安全性、是否会加重神经系统症状、合理手术方式的选择及术后长期随访情况有待报道^[40]。近期研究表明,WD患者进行脾切除术或者部分脾栓塞术不会导致死亡率增加,安全可行,手术风险相对较低,仅有部分患者出现神经功能恶化^[41-42]。肝移植被认为是治疗WD伴暴发性肝衰竭及无法进行其他治疗的晚期慢性肝病患者首选治疗手段^[43],但目前有关肝移植在WD伴有神经精神表型患者是否受益仍存争议。有研究表明,肝移植对螯合剂或锌盐耐药的严重神经系统恶化的WD患者有效,肝移植可能会减少神经系统损伤,但是需要更多临床数据支撑^[44-45]。

1.3.3 基因疗法 目前WD的治疗方法是基于终身

驱铜理念,但这种疗法具有一定的不良反应并且不能恢复正常的铜代谢,在临床治疗时具有一定的局限性。而基因治疗可直接解决疾病的根本原因,为WD患者提供全新的治疗选择。2016年,MURILLO等^[46]发现AAV8-AAT-ATP7B介导的基因疗法可对ATP7B基因敲除(Atp7b^{-/-})WD小鼠模型进行了铜代谢的长期校正。VTX-801是由Vivet Therapeutics公司研发的一种ATP7B腺相关病毒药物,其治疗潜力早已在临床前动物模型中已经得到证实^[47]。目前正在进行为期12周的临床安全性和有效性研究的评估,十分期待最终的结果。研究显示,肝细胞移植具有一定的治疗潜力,然而因为这种策略经常受到优质供体细胞短缺和同种异体免疫排斥的阻碍。CAI等^[48]建立了自体重编程WD肝细胞系统,证明了LPC-ATP7B-Heps移植在WD小鼠模型中对铜稳态的治疗效果,在体外实现了ATP7B基因治疗。虽然有关WD的基因疗法已经取得了一定的进步,但其距离广泛的临床应用仍具有差距,仍需进一步努力。

2 中医病因病机和治疗

2.1 中医病因病机 WD临床表现广泛,常见肢体抖动、肌肉痉挛、痞满纳呆、身目黄染、腕腹胀大等症,可归纳于祖国医学的“痞满”“黄疸”“鼓胀”“颤证”“痉证”等范畴。结合《黄帝内经》中“诸风掉眩,皆属于肝”理论,肝风内动曾被多数学者认为是WD的基本病机,临证多采用平肝息风治法,常用重镇贝壳类药物,但是由于上述中药含铜量高使用后症状反而加重,提示不应单以“肝风内动”论之^[49]。杨任民等^[50]根据WD患者口臭、流涎、便干、溲赤、舌质红、苔黄腻、脉数等表现,认为铜毒蓄积日久化生湿热,湿热内蕴是本病的基本病机。汪瀚则认为本病主要病机为先天不足,肝脏疏泄失常,胆汁排泄不畅,铜毒蓄积体内,形成痰浊、瘀血、水湿等病理产物,从而变生诸证^[51]。韩辉等^[52]认为痰浊、瘀血是该病的基本病因病机,且与湿热、血虚、气郁等因素有关。本病禀受于父母,病情多隐匿潜藏,常起病于儿童青少年时期,因此杨文明从伏邪学说探讨WD的病因病机,认为伏毒为WD关键病因,而伏毒阻络为WD关键病机,并提出了WD的三级伏邪学说,认为遗传因素即为其一级伏邪,二级伏邪为代谢之邪(铜毒之邪),三级伏邪为代谢产生的痰瘀之邪^[53-55]。总的来说,肝肾不足、铜毒蓄积是本病病因,湿热内蕴、痰瘀互结为主要病机,在疾病的不同阶段,主要病机有所不同,临床当予以明辨。

2.2 中医药治疗 中医药防治WD由来已久,目前中医药治疗主要以滋补肝肾、温补脾肾治其本,清热利湿、化痰祛瘀、疏肝理气治其标,标本同治,方为根本。在辨证论治的基础上,形成了治疗WD的专病专方,如肝豆灵、肝豆汤、肝豆扶木汤等,在临床得到了广泛的运用。

2.2.1 辨证论治 崔世麟^[56]提出应根据WD患者首发症状辨证施治,例如以肝脏症状为首发者,证属脾肾阳虚、气机阻滞,治宜温阳疏利;以精神症状为首发者,证属肝失条达、疏泄失司,治宜柔肝疏郁。湛宁生^[57]将WD概括为肝风内动、湿困脾胃、痰浊阻络、热毒内盛4种证型,治宜滋养肝肾、柔肝熄风,芳香化湿、健脾和胃,祛痰通络、醒脑开窍,清热解毒、泻肝降火。杨任民认为本病病情复杂多变,证候虚实夹杂,虚证分为肝肾阴虚,虚风内动型、肾阴不足,枯骨髓减型、阴血火旺,火扰心神型,治以滋补肝肾、滋阴降火、补肾填精;实证分为湿热内蕴,积聚鼓胀型和火灼肝胆,胆热液泄型,治以清肝利胆、活血软坚^[58]。杨文明等^[59]则认为肝肾不足是本病辨证治疗的中心,应时时顾护肝肾。在病情发展的不同阶段,产生风、火、痰、瘀等病理产物,辨明标本轻重缓急。若邪盛应先祛突出之邪,再补益肝肾以固本。并进一步提出了WD中医药诊疗方案^[60-61],将WD归纳为湿热内蕴、痰瘀互结、肝气郁结、肝肾阴亏、脾肾阳虚5种证型,应以滋补肝肾、温补脾肾治其本,清热利湿、化痰祛瘀、疏肝理气治其标,标本同治方为治疗WD的根本。

2.2.2 专病专方 安徽省中医院是国内最大的WD诊疗基地,在WD的诊疗方面积累了丰富的经验。经过数十年的临床研究,发现湿热内蕴、痰瘀互结是WD患者最常见的证型,确立了清热解毒、化痰软坚、利胆排铜的治法,研制具有自主知识产权的肝豆灵片(批准文号皖药制字Z20050071),在临床上得到了广泛运用,临床疗效显著^[62-63]。研究表明,肝豆灵能改善WD患者肝功能、细胞免疫功能、认知记忆损害和抑郁障碍等,发挥肝、脑等多脏器保护作用^[64]。现代研究表明,肝豆灵片的神经保护机制可能是通过调节大脑中的磷酸酶及张力蛋白同源物(PTEN)诱导激酶1/E3泛素连接酶通路来抑制过度的线粒体自噬^[65]。杨任民团队多从湿热内蕴论治WD,创立清热解毒、通腑利尿的中药复方肝豆汤,并在肝豆汤的基础上加减化裁而成肝豆汤Ⅱ号和Ⅳ号,经长期临床观察取得较佳的疗效^[66-69]。前期研究表明,肝豆汤可能通过调控Wnt/ β -连环蛋白通

路和丝裂原活化蛋白激酶通路缓解WD肝损伤,调控细胞外信号调节激酶(ERK)通路和肝激酶B₁/腺苷酸活化蛋白激酶通路缓解WD神经元损伤^[70]。杨文明对本病具有独到见解,创制补益肝肾、豁痰祛瘀的中药复方肝豆扶木汤,是临床上用于治疗WD肝纤维化的常用效方^[53]。相关实验也证明,肝豆扶木汤可以通过调控JNK及磷脂酰肌醇3-激酶信号通路发挥抗氧化作用缓解WD肝纤维化^[71-72]。张娟善用自拟补肾活血化浊方治疗WD,发现该药与西医联合治疗后可以改善WD肝纤维化患者临床症状^[73]。

2.2.3 单味中药 本课题组前期运用数据挖掘技术分析安徽中医药大学第一附属医院脑病中心临床数据库中提取2014年12月至2019年12月3985例住院患者资料研究中医治疗WD的用药规律,处方涉及403味中药,总应用频次高达48468次,发现大黄、黄连、姜黄等是治疗WD的核心中药^[74]。

小檗碱是黄连的主要活性成分,具有抗炎及抗氧化作用。近些年来研究发现小檗碱在保护脏器损伤及改善代谢性疾病具有显著的药理活性^[75]。吴鹏等^[76]发现经小檗碱干预后,铜负荷大鼠肝组织纤维化程度明显减轻,血清转氨酶降低,Notch3、Hes1、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达下降,提示小檗碱可能通过调控Notch3/Hes1信号通路表达对抗铜负荷大鼠肝纤维化。

大黄的主要成分大黄素和大黄多糖在抗氧化及防治有氧化损伤引起的相关疾病方面有较好的疗效,研究发现,经大黄素和大黄多糖治疗后铜负荷大鼠血清和肝组织中丙二醛(MDA)水平显著下降,超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平显著升高,肝功能指标水平明显下降^[77]。此外,刘亚鹏等人采用超高效液相色谱法测定大黄与铜离子络合能力,根据铜离子配位率筛选出8种具有较强配位能力的化合物,说明大黄可与铜离子络合,促进铜离子排出^[78]。

研究表明,姜黄素可能通过重塑ATP7B突变蛋白表达、螯合铜离子、清除活性氧、阻止脂质过氧化发挥对抗WD的治疗潜力^[79]。研究发现,姜黄素可以减轻铜负荷大鼠降低肝脏MDA含量,增加GSH水平和SOD活力,降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-8(IL-8)的含量,通过抗氧化和抑制磷酸化JNK的表达抵抗高铜诱导的细胞凋亡^[80-81]。另外有研究证实,姜黄素的抗氧化作用可能与抑制

铁死亡发生有关,姜黄素可促进核因子E₂相关因子-2(Nrf-2)和血红素氧合酶-1(HO-1)蛋白表达,抑制谷胱甘肽过氧化物酶4表达,从而发挥保护作用^[82]。此外,姜黄素可部分恢复大多数ATP7B突变体的蛋白表达,直接增强残余铜输出活性,促进铜排泄^[83]。

此外,有研究表明天然活性物质褐藻胶可能通过增强肝细胞铜蓝蛋白表达和促进铜离子排泄,减轻肝细胞变性凋亡和肝纤维化损害,从而改善WD模型小鼠肝功能^[84],并可以抑制铜离子引起的氧化应激和炎症反应,发挥基底节豆状核神经细胞发挥保护作用^[85]。

3 中西医结合治疗

西医驱铜药物临床疗效确切,但经常出现一些不良反应,限制了临床的使用,并且西药作用靶点单一,驱铜药物无法缓解既往铜离子蓄积引起的脏器损伤。而中医药治疗WD具有显著优势,可以通过多靶点发挥综合治疗作用,但其作用和缓、起效时间相对较长,驱铜作用相对较弱,对于症状期WD患者单一中医药治疗难以取得较好临床疗效。因此,中西医结合治疗WD发挥了突出作用。中西医并重,两者相互补充,为WD治疗贡献中西医结合的力量。

一项有关中草药治疗WD的系统评价与荟萃分析显示,中药复方是治疗WD的辅助疗法,对于早期患者和症状稳定的维持期患者,推荐使用中西医结合综合治疗方案^[86]。ZHANG等^[87]研究发现,运用肝豆灵片联合二巯丙磺钠治疗WD能显著改善总体评定量表评分、肝肾功能,促进24h尿铜排泄,仅少部分患者有轻度不良反应,92.30%患者症状有所改善或稳定。有学者研究发现,运用肝豆扶木颗粒联合西医基础治疗WD患者具有有较明显的临床疗效,能调节患者体内促炎因子TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平,提高SOD水平,减少MDA水平,具有抑制炎症和抗氧化应激作用^[88-89]。杨任民等^[90]采用肝豆片联合西医驱铜药物对198例WD患者进行长期治疗,发现随访6个月后总有效率达94.95%,表明长期坚持中西医结合治疗可提高大多数WD患者生活质量和寿命。

4 结语与展望

WD属于世界疑难杂症,临床症状复杂多变,发病机制异常复杂。目前临床上仍以青霉胺等重金属螯合剂为主,但驱铜药伴随的不良反应逐渐暴露,限制了其临床使用。而中药作用和缓、不良反

应少,并具有多靶点、多途径的特点,在治疗复杂疾病方面具有优势,主要采用清热利湿、通腑利尿、活血化瘀、利胆排铜等治法进行辨证论治。此外,中医药与西药联合应用促进尿铜排泄,缓解肝脑等脏器损伤,改善患者临床症状,减轻药物不良反应,取得显著的疗效。因此,中西医结合的WD治疗方案被逐渐推广和应用,展现出巨大的治疗潜力。但目前多为小样本、回顾性临床研究,缺少前瞻性、多中心、双盲对照大样本的循证医学证据,并且中医药产生疗效机制研究和物质基础方面并不深入。因此,进一步明确中医药治疗WD优势,获得高级别和高质量临床循证证据,形成中西医结合治疗WD的特色诊疗策略是今后努力的重点。

[参考文献]

- [1] Compston A. Progressive lenticular degeneration: A familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver, by S. A. Kinnier Wilson, (From the National Hospital, and the Laboratory of the National Hospital, Queen Square, London) *Brain* 1912; 34; 295-509 [J]. *Brain*, 2009, 132(Pt 8): 1997-2001.
- [2] SANDAHL T D, LAURSEN T L, MUNK D E, et al. The prevalence of Wilson's disease: An update [J]. *Hepatology*, 2020, 71(2): 722-732.
- [3] 杨任民. 肝豆状核变性[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015.
- [4] PETRUKHIN K, FISCHER S G, PIRASTU M, et al. Mapping, cloning and genetic characterization of the region containing the Wilson disease gene [J]. *Nat Genet*, 1993, 5(4): 338-343.
- [5] CZIONKOWSKA A, LITWIN T, DUSEK P, et al. Wilson disease [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4(1): 21.
- [6] STÄTTERMAYER A F, TRAUSSNIGG S, DIENES H P, et al. Hepatic steatosis in Wilson disease—Role of copper and PNPLA3 mutations [J]. *J Hepatol*, 2015, 63(1): 156-163.
- [7] SCHIEFERMEIER M, KOLLEGER H, MADL C, et al. The impact of apolipoprotein E genotypes on age at onset of symptoms and phenotypic expression in Wilson's disease [J]. *Brain*, 2000, 123(Pt 3): 585-590.
- [8] STUEHLER B, REICHERT J, STREMMEL W, et al. Analysis of the human homologue of the canine copper toxicosis gene MURR1 in Wilson disease patients [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2004, 82(9): 629-634.
- [9] SENZOLO M, LORENO M, FAGIUOLI S, et al. Different neurological outcome of liver transplantation

- for Wilson's disease in two homozygotic twins[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2007, 109(1): 71-75.
- [10] CZŁONKOWSKA A, GROMADZKA G, CHABIK G. Monozygotic female twins discordant for phenotype of Wilson's disease[J]. *Mov Disord*, 2009, 24(7): 1066-1069.
- [11] VAN DEN BERGHE P V, STAPELBROEK J M, KRIEGER E, et al. Reduced expression of ATP7B affected by Wilson disease-causing mutations is rescued by pharmacological folding chaperones 4-phenylbutyrate and curcumin[J]. *Hepatology*, 2009, 50(6): 1783-1795.
- [12] CHESI G, HEGDE R N, IACOBACCI S, et al. Identification of p38 MAPK and JNK as new targets for correction of Wilson disease-causing ATP7B mutants[J]. *Hepatology*, 2016, 63(6): 1842-1859.
- [13] YU C H, LEE W, NOKHRIN S, et al. The structure of metal binding domain 1 of the copper Transporter ATP7B reveals mechanism of a singular Wilson disease mutation[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 581.
- [14] WANG C, ZHOU W, HUANG Y, et al. Presumed missense and synonymous mutations in ATP7B gene cause exon skipping in Wilson disease[J]. *Liver Int*, 2018, 38(8): 1504-1513.
- [15] SCHIEBER M, CHANDEL N S. ROS function in redox signaling and oxidative stress [J]. *Curr Biol*, 2014, 24(10): R453-462.
- [16] GROMADZKA G, KRUSZYŃSKA M, WIERZBICKA D, et al. Gene variants encoding proteins involved in antioxidant defense system and the clinical expression of Wilson disease[J]. *Liver Int*, 2015, 35(1): 215-222.
- [17] 廖建昭, 杨帆, 裴若男, 等. 铜通过活性氧诱导鸡肝细胞发生焦亡[J]. *中国兽医学报*, 2018, 38(12): 2374-2378.
- [18] HUSTER D. Structural and metabolic changes in *Atp7b^{-/-}* mouse liver and potential for new interventions in Wilson's disease[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2014, 1315: 37-44.
- [19] ZISCHKA H, EINER C. Mitochondrial copper homeostasis and its derailment in Wilson disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 102: 71-75.
- [20] MEDICI V, SARODE G V, NAPOLI E, et al. mtDNA depletion-like syndrome in Wilson disease [J]. *Liver Int*, 2020, 40(11): 2776-2787.
- [21] 李毓雯, 万小华, 宁琴, 等. 铜过量负荷导致肝细胞凋亡及其对 Bax Bcl-2 基因表达的影响[J]. *中国当代儿科杂志*, 2008, 10(1): 42-46.
- [22] LANG P A, SCHENCK M, NICOLAY J P, et al. Liver cell death and anemia in Wilson disease involve acid sphingomyelinase and ceramide[J]. *Nat Med*, 2007, 13(2): 164-170.
- [23] TSVETKOV P, COY S, PETROVA B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins[J]. *Science*, 2022, 375(6586): 1254-1261.
- [24] 李潇瑾, 李艳萌, 李振坤, 等. 基于转录组测序探究 ATP7B 基因缺陷小鼠铜累积诱导肝细胞自噬的相关机制[J]. *中国生物工程杂志*, 2021, 41(9): 10-19.
- [25] POLISHCHUK E V, MEROLLA A, LICHTMANNEGGER J, et al. Activation of autophagy, observed in liver tissues from patients with wilson disease and from ATP7B-deficient animals, protects hepatocytes from copper-induced apoptosis [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(4): 1173-1189. e5.
- [26] MORDAUNT C E, KIEFFER D A, SHIBATA N M, et al. Epigenomic signatures in liver and blood of Wilson disease patients include hypermethylation of liver-specific enhancers [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2019, 12(1): 10.
- [27] LE A, SHIBATA N M, FRENCH S W, et al. Characterization of timed changes in hepatic copper concentrations, methionine metabolism, gene expression, and global DNA methylation in the Jackson toxic milk mouse model of Wilson disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(5): 8004-8023.
- [28] MENG H, CHEN G, GAO H M, et al. The emerging nexus of active DNA demethylation and mitochondrial oxidative metabolism in post-mitotic neurons[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(12): 22604-22625.
- [29] SCHILSKY M L, CZŁONKOWSKA A, ZUIN M, et al. Trientine tetrahydrochloride versus penicillamine for maintenance therapy in Wilson disease (CHELATE): A randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(12): 1092-1102.
- [30] LOWNDES S A, ADAMS A, TIMMS A, et al. Phase I study of copper-binding agent ATN-224 in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(22): 7526-7534.
- [31] WEISS K H, ASKARI F K, CZŁONKOWSKA A, et al. Bis-choline tetrathiomolybdate in patients with Wilson's disease: An open-label, multicentre, phase 2 study[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2017, 2(12): 869-876.
- [32] MÜLLER J C, LICHTMANNEGGER J, ZISCHKA H, et al. High spatial resolution LA-ICP-MS demonstrates massive liver copper depletion in Wilson disease rats

- upon Methanobactin treatment[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2018, 49: 119-127.
- [33] VON HERBAY A, DE GROOT H, HEGI U, et al. Low vitamin E content in plasma of patients with alcoholic liver disease, hemochromatosis and Wilson's disease [J]. *J Hepatol*, 1994, 20(1): 41-46.
- [34] FRYER M J. Potential of vitamin E as an antioxidant adjunct in Wilson's disease[J]. *Med Hypotheses*, 2009, 73(6): 1029-1030.
- [35] KALITA J, KUMAR V, MISRA U K, et al. Adjunctive antioxidant therapy in neurologic Wilson's disease improves the outcomes [J]. *J Mol Neurosci*, 2020, 70(3): 378-385.
- [36] 张波, 杨雄杰, 方媛媛, 等. 谷胱甘肽片治疗肝豆状核变性的临床研究[J]. *中国新药与临床杂志*, 2011, 30(3): 199-202.
- [37] 李良勇, 吴云虎, 李亚军, 等. 还原型谷胱甘肽添加治疗 Wilson 病神经系统症状的疗效及对氧化应激水平的影响 [J]. *临床神经病学杂志*, 2020, 33(4): 262-265.
- [38] 陈怀珍, 蔡永亮, 王艳忻, 等. 肝豆灵片合凯西莱治疗肝豆状核变性 43 例临床观察 [J]. *中医药临床杂志*, 2007, 19(4): 385-386.
- [39] 徐磊, 蔡永亮, 徐志树, 等. 凯西莱联合青霉胺治疗肝豆状核变性模型鼠的研究 [J]. *临床神经病学杂志*, 2007, 20(6): 450-452.
- [40] 黄龙, 于庆生, 潘晋方, 等. 外科辅助治疗肝豆状核变性 231 例临床分析 [J]. *肝胆外科杂志*, 2014, 22(3): 190-193.
- [41] ZHANG W, YU Q, PENG H, et al. Clinical observation and risk assessment after splenectomy in hepatolenticular degeneration patients associated with hypersplenism [J]. *Front Surg*, 2022, 9: 972561.
- [42] LI L Y, CHEN H Z, BAO Y C, et al. Successful Treatment of Hypersplenism in Wilson's Disease by Partial Splenic Embolization [J]. *J Invest Surg*, 2018, 31(2): 75-81.
- [43] BELLARY S, HASSANEIN T, VAN THIEL D H. Liver transplantation for Wilson's disease [J]. *J Hepatol*, 1995, 23(4): 373-381.
- [44] BANDMANN O, WEISS K H, HEDERA P. Liver transplant for neurologic Wilson disease: Hope or fallacy? [J]. *Neurology*, 2020, 94(21): 907-908.
- [45] ABDALLAH M A, SINGAL A K. Liver Transplantation in adults with Wilson's disease for the neuropsychiatric phenotype: Are we there yet? [J]. *Liver Transpl*, 2020, 26(4): 485-486.
- [46] MURILLO O, LUQUI D M, GAZQUEZ C, et al. Long-term metabolic correction of Wilson's disease in a murine model by gene therapy [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(2): 419-426.
- [47] MURILLO O, MORENO D, GAZQUEZ C, et al. Liver expression of a MiniATP7B gene results in long-term restoration of copper homeostasis in a Wilson disease model in mice [J]. *Hepatology*, 2019, 70(1): 108-126.
- [48] CAI H, CHENG X, WANG X P. ATP7B gene therapy of autologous reprogrammed hepatocytes alleviates copper accumulation in a mouse model of Wilson's disease [J]. *Hepatology*, 2022, 76(4): 1046-1057.
- [49] 杨任民, 鲍远程, 杨兴涛, 等. “肝豆汤”对 37 例肝豆状核变性症的驱铜观察 [J]. *安徽中医学院学报*, 1983(3): 41.
- [50] 杨任民, 韩咏竹, 任明山, 等. 中药治疗肝豆状核变性 107 例疗效观察 [J]. *中医杂志*, 1993(11): 644, 676-677.
- [51] 汪瀚, 杨文明, 鲍远程. 从铜毒论治肝豆状核变性初探 [J]. *安徽中医学院学报*, 2009, 28(5): 4-6.
- [52] 韩辉, 杨文明, 张娟, 等. 肝豆状核变性的中医证候特征 [J]. *中医药临床杂志*, 2014, 26(1): 16-19.
- [53] 钱南南, 杨文明, 魏涛华, 等. 肝豆状核变性伏毒阻络病因病机探要 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(12): 133-140.
- [54] 阮雅楠, 杨文明. 肝豆状核变性的伏邪致病动态分层辨析 [J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(2): 999-1002.
- [55] 程婷, 李祥, 黄鹏, 等. 肝豆状核变性-伏邪致病新论 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21(8): 64-67.
- [56] 崔世麟. 肝豆状核变性的中医治疗 [J]. *上海中医药杂志*, 1992(10): 7-10.
- [57] 谌宇生. 肝豆状核变性的中医药治疗 [J]. *江西中医药*, 1997(3): 22-23.
- [58] 韩景献, 孙怡, 杨任民. 实用中西医结合神经病学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [59] 杨文明, 陈彪, 鲍远程, 等. 肝豆状核变性病中医临床思考 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2004(6): 66-69
- [60] 杨文明, 鲍远程, 张波, 等. 肝豆状核变性诊疗方案 [J]. *中医药临床杂志*, 2012, 24(11): 1130-1131.
- [61] 丁宇峰, 张静, 杨文明, 等. 同型半胱氨酸与肝豆状核变性患者中医证型的相关性 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(23): 110-116.
- [62] 韩辉, 郑明翠, 吴丽敏, 等. 肝豆状核变性中医证型与 ATP7B 基因突变的相关性研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(7): 799-804.
- [63] 陈永华, 杨文明, 张波, 等. 解毒化痰方肝豆灵片治疗肝豆状核变性的临床疗效观察 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(1): 390-393.

- [64] 张玉婷,李立华,陈浩. 新安特色制剂肝豆灵片治疗肝豆状核变性的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(23):97-102.
- [65] ZHANG J, TANG L L, LI L Y, et al. Gandouling tablets inhibit excessive mitophagy in toxic milk (TX) model mouse of Wilson disease via Pink1/Parkin pathway[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020,2020:3183714.
- [66] 杨任民,鲍远程,杨兴涛,等. 肝豆汤对37例肝豆状核变性驱铜的观察[J]. 中西医结合杂志,1984(8):462-464.
- [67] 薛本春,杨任民,胡纪源,等. 肝豆汤Ⅱ号干预治疗Wilson病患者肝纤维化机制探讨[J]. 安徽医学,2007(4):296-299.
- [68] 薛本春,杨任民,胡纪源,等. 肝豆汤Ⅳ号联合短期驱铜治疗对肝豆状核变性患者肝纤维化血清学指标的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2007(9)
- [69] 胡文彬,杨任民. 肝豆片Ⅰ号治疗肝豆状核变性临床疗效观察[J]. 中国中西医结合杂志,1998,18(1):12.
- [70] 程楠,韩咏竹,杨任民. 中药肝豆汤治疗Wilson病疗效机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(7):49-55.
- [71] 杨悦,杨文明,魏涛华,等. 肝豆扶木汤通过JNK信号通路对Wilson病肝纤维化小鼠的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(12):119-126.
- [72] 唐露露,张静,魏涛华,等. 肝豆扶木汤对CuCl₂诱导的HepG2细胞氧化损伤的保护作用和机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(12):48-56.
- [73] 马莹,张娟,陈宏,等. 补肾活血化浊方干预肝豆状核变性肝纤维化的临床研究[J]. 中医药学报,2021,49(4):38-42.
- [74] 钱南南,魏涛华,杨文明,等. 中医治疗肝豆状核变性用药规律数据挖掘研究[J]. 中国中医药信息杂志,2021,28(10):29-36.
- [75] 陈美琳,李芝奇,范琦琦,等. 小檗碱药理作用及其相关作用机制研究进展[J]. 中草药,2022,53(18):5861-5872.
- [76] 吴鹏,王亚东,蒋怀周,等. 小檗碱对铜负荷大鼠肝纤维化组织Notch信号通路的作用研究[J]. 中华中医药杂志,2018,33(10):4731-4735.
- [77] 徐磊,蔡永亮,王艳昕,等. 大黄素和大黄多糖对铜负荷模型大鼠脂质过氧化的影响[J]. 中医杂志,2013,54(10):870-872.
- [78] 刘亚鹏,张旺,刘心洁,等. 超高效液相色谱法测定大
- 黄与铜离子络合能力[J]. 色谱,2023,41(4):323-329.
- [79] JI H F, SHEN L. Potential of curcumin as a multifunctional agent to combat Wilson disease[J]. Hepatology,2010,51(6):2226.
- [80] 万小华,李毓雯,罗小平. 铜负荷大鼠肝脏脂质过氧化和凋亡损伤及姜黄素的保护作用[J]. 中华儿科杂志,2007,45(8):604-608.
- [81] 万小华,罗小平. 铜对大鼠肝细胞凋亡的影响以及姜黄素的保护作用[J]. 中国当代儿科杂志,2007,9(6):567-570.
- [85] 严慧. 姜黄素抑制铁死亡保护铜损伤HLD模型细胞的作用机制研究[D]. 合肥:安徽中医药大学,2021.
- [83] VAN DEN BERGHE P V, STAPELBROEK J M, KRIEGER E, et al. Reduced expression of ATP7B affected by Wilson disease-causing mutations is rescued by pharmacological folding chaperones 4-phenylbutyrate and curcumin[J]. Hepatology,2009,50(6):1783-1795.
- [84] 王悦,于曦,刘姿杉,等. 褐藻胶对肝豆状核变性小鼠肝脏的保护作用机制研究[J]. 中国海洋药物,2022,41(5):32-40.
- [85] 南宝,周缜,汪贯习,等. 褐藻胶对Wilson病小鼠的神经保护作用机制研究[J]. 中国海洋药物,2022,41(4):36-44.
- [86] XU M B, RONG P Q, JIN T Y, et al. Chinese herbal medicine for Wilson's disease: A systematic review and Meta-analysis[J]. Front Pharmacol,2019,10:277.
- [87] ZHANG J, XIE D, LI Y, et al. Evaluation of efficacy and safety of gandouling plus sodium dimercaptosulphonate in treatment of patients with neurological Wilson's disease from China[J]. J Tradit Chin Med,2018,38(5):781-786.
- [88] 唐露露,杨文明,董婷,等. 肝豆扶木颗粒治疗肝肾亏虚兼痰瘀互结型Wilson病患者的临床疗效[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(12):127-132.
- [89] 吴梦婷,董婷,赵晨玲,等. 基于数字化门诊信息探讨肝豆灵联合短期驱铜治疗对肝豆状核变性肝型患者的临床疗效[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(23):103-109.
- [90] 杨任民,程楠. 中西医结合治疗198例肝豆状核变性患者的近期疗效及随访观察[J]. 中国中西医结合杂志,2002,22(9):657-659.

[责任编辑 王鑫]