以丙型肝炎病毒体内感染裸鼠模型筛选 20 种常用清热解毒类中药*

唐智敏¹ 彭 萌² 詹春姣³ 李航森² 石淑仙³

摘要 目的:用 HCV 体内感染裸鼠模型筛选 20 种常用清热解毒类中药,以寻找有效的抗 HCV 药物。方法:模型鼠用药 3 个月,用透射电子显微镜观察裸鼠脾内移植的人胎肝细胞中是否仍有 HCV 样颗粒,用定量 RT-PCR 技术检测用药前后血清 HCV RNA 含量。结果:(1)各中药组,用药 3 个月在裸鼠脾脏内移植的人胎肝细胞中均可找到 HCV 样颗粒。(2)双龙胆草、黄芩、山豆根、栀子、苦参 5 味中药组,用药 3 个月后血清 HCV RNA 含量明显下降,其他中药组,用药 3 个月前后血清 HCV RNA 含量无明显下降。结论:该 20 种中药均无直接清除 HCV 的作用,但龙胆草、黄芩、山豆根、栀子及苦参 5 味中药可明显抑制 HCV RNA 的复制。

关键词 丙型肝炎病毒 裸鼠模型 中药筛选

Screening 20 Chinese Herbs often Used for Clearing Heat and Dissipating Toxin with Nude Mice Model of Hepatitis C Viral Infection TANG Zhi-min, PENG Meng, ZHAN Chun-jiao, et al *Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510120)*

Objective: To seek effective drugs for anti-hepatitis C virus by screening 20 Chinese herbs often used for clearing heat and dissipating toxin with nude mice model of hepatitis C viral (HCV) infection. **Methods:** After the model mice had been treated with selected drug for 3 months, transmission electron microscope was used to observe whether the HCV-like particles in human fetal hepatocytes (HFH) transplanted into mice spleen still existed, and quantitative RT-PCR technique was used to detect the serum content of HCV-RNA before and after treatment. **Results:** (1) HCV-like particles existed in all the model mice after treatment. (2) Serum content of HCV-RNA decreased after treated with Radix Gentianae, Radix Scutellariae, Radix Sophorae tonkinensis, Fructus Gardeniae and Fructus Sophorae flavoscentis, but unchanged after treatment with other drugs. **Conclusion:** All the 20 herbs screened has not effect in directly eradicating HCV, but Radix Gentianae, Radix Scutellariae, Radix Sophorae tonkinensis, Fructus Gardeniae and Fructus Sophorae flavoscentis could significantly inhibit the replication of HCV-RNA.

Key words hepatitis C virus, nude mice model, screening of Chinese herbal medicine

清热解毒类中药是否有直接抗丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 的药理作用,至今尚无实验研究的结果。我们在建立 HCV 体内感染裸鼠模型的基础上,筛选 20 种常用清热解毒类中药借以探讨这些中药是否有直接抗 HCV 的作用。

材料与方

1 HCV 体内感染裸鼠模型的建立 分离 5~6 月龄人胎肝细胞 (human fetal hepatocytes, HFH),在

体外感染 HCV 后,移植入 6~8 月龄裸鼠脾脏内,以建立 HCV 体内感染裸鼠模型,方法参照文献^[1]。

2 分组与对照 取上述模型鼠 315 只,体重 18~22g 随机分 21 组,每组 15 只,雌雄不限。20 种中药分为 20 组,另一组作为对照用等量生理盐水取代中药煎汁。每只裸鼠在实验前取血液 0.3ml 析成血清,采用定量 RT-PCR 技术检查 HCV RNA。从各组中剔除血清中 HCV RNA 阴性的裸鼠,不参加实验。

3 中药煎汁的制备与给予 取大黄 *Rheum palmatum* L (青海产),龙胆草 *Gentiana scabra* Bunge (湖北产),苦味叶下珠 *Phyllanthus amarus* (云南产),黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georg (河北产),黄柏 *Phellodendron amurense* Rupr (辽宁产),山豆根 *Sophora*

* 国家自然科学基金资助 (No. 39670910)

1. 广东省中医院内科 (广州 510120); 2. 湖北中医学院附属医院;
3. 华中科技大学同济医学院附属同济医院

通讯作者:唐智敏, Tel: E-mail: weizai@21cn.com

subprostrata Chun et T. Cher(广西产) 栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis(湖北产), 虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc(湖北产), 茵陈 *Artemisia capillaris* Thunb(陕西产), 天花粉 *Trichosanthes kirilowii* Maxim(湖北产), 苦参 *Sophora flavescens* Ait(湖北产), 牡丹皮 *Paeonia suffruticosa* Andr(安徽产), 连翘 *Forsythia suspensa* Vah(辽宁产), 板蓝根 *Isatis tinctoria* L(江苏产), 穿心莲 *Andrographis paniculata* Nees(广西产), 半边莲 *Lobelia chinensis* Lour(湖北产), 垂盆草 *Sedum sarmentosum* Bunge(湖南产), 蚤休 *Paris polyphylla* Smith(湖北产), 柴胡 *Bupleurum chinense* DC(辽宁产), 败酱草 *Patrinia scabiosaeifolia* Fisch(安徽产)。上述各中药分别经过自来水浸泡 30min, 文火煎汁两次, 两次煎汁合并, 制剂室浓缩至生药含量为 0.03g/ml, 过滤分装 4℃ 冰箱保存。每只模型鼠每天以中药浓缩煎汁灌胃 0.2ml/10g 体重, 90 天。对照组每天以 0.2ml 生理盐水/10g 体重灌胃, 共 90 天。

4 取材 90 天的给药期结束后, 杀鼠取血液, 析成血清, -20℃ 保存。待查定量 RT-PCR, 同时取裸鼠脾脏人胎肝细胞种植处的组织, 剪碎, 按已建立的方法^[2]作透射电子显微镜(日立 H-600A 型)检查。

5 血液中 HCVRNA 含量 采用定量 RT-PCR 测定, 按李伯安等的方法^[3]进行。

结 果

1 各组模型鼠脾脏中移植 HFH 比较 透射电镜检查, 每只模型鼠脾脏均可找到有 HCV 颗粒的 HFH。无论是各治疗组还是对照组, 各组间透射电镜检查检查结果差异无显著性。

2 各组间模型鼠血液中 HCVRNA 含量的比较 见表 1。结果表明, 仅龙胆草组、黄芩组、山豆根组、栀子组、苦参组等 5 组模型鼠用药后血清中 HCVRNA 显著下降 ($P < 0.05$), 其余各中药组用药后模型鼠血清 HCVRNA 含量与用药前相比均无显著改变。生理盐水对照组也无显著改变。

讨 论

不少学者将清热解毒类中药在丙型肝炎患者中应用, 并获得显著的疗效^[4]。但清热解毒类中药抗 HCV 感染的功效及抗 HCV 的机制尚需进一步论证。我们用 HCV 体内感染裸鼠模型筛选 20 种常用清热解毒中药, 结果表明, 各中药治疗组用药 3 个月, 裸鼠体内

表 1 各组间模型鼠血液中 HCVRNA 含量比较

组别	n	血清 HCVRNA 含量	
		用药前	用药后
对照	10	5.8×10^3	6.2×10^3
龙胆草	11	6.8×10^4	$2.9 \times 10^3^*$
苦味叶下珠	10	4.8×10^3	4.4×10^3
黄芩	10	6.2×10^4	$2.2 \times 10^3^*$
黄柏	10	5.6×10^4	4.8×10^4
山豆根	9	6.1×10^4	$2.9 \times 10^3^*$
栀子	10	7.2×10^4	$3.2 \times 10^3^*$
虎杖	9	4.5×10^4	4.9×10^4
茵陈	10	5.0×10^3	5.6×10^3
天花粉	11	5.1×10^4	4.7×10^4
苦参	10	7.0×10^4	$3.6 \times 10^3^*$
牡丹皮	11	5.1×10^3	4.7×10^3
连翘	11	4.9×10^4	5.1×10^4
板蓝根	10	4.2×10^4	4.6×10^4
大黄	11	4.5×10^3	4.3×10^3
穿心莲	9	4.7×10^3	5.3×10^3
半边莲	9	5.3×10^4	4.9×10^4
垂盆草	10	5.2×10^3	4.8×10^3
蚤休	10	6.4×10^3	6.8×10^3
柴胡	9	5.5×10^4	5.1×10^4
败酱草	10	4.4×10^4	4.8×10^4

注: 与治疗前比较, * $P < 0.05$

肝细胞中, HCV 样颗粒依然存在, 与对照组完全相同。提示这些中药均无直接清除 HCV 的作用。

各治疗组用药前及用药 3 个月后血清 HCVRNA 含量的比较, 仅发现龙胆草、黄芩、山豆根、栀子、苦参 5 味药血清 HCVRNA 含量在用药后明显下降, 而其他治疗组同对照组一样, 血清 HCVRNA 含量无显著变化。由于接种入裸鼠体内伴 HCV 感染的人胎肝细胞数量恒定, 所以血清 HCVRNA 含量主要反映机体内 HCVRNA 的复制水平。有鉴于此, 上述结果提示, 龙胆草、黄芩、山豆根、栀子、苦参 5 味中药虽然不能清除 HCV, 但能有效抑制 HCVRNA 的复制。

参 考 文 献

- 唐智敏, 詹春姣, 金文银, 等. 丙型肝炎病毒体内感染裸鼠模型的建立. 中西医结合肝病杂志 2002; 11(5): 276—278.
- 唐智敏, 詹春姣, 章敏, 等. 人胎肝细胞感染 HCV 的定位研究. 同济医科大学学报 2001; 30(1): 69—72.
- 李伯安, 马洪滨, 薛净, 等. 定量聚合酶链反应在检测丙型肝炎病毒感染血清中的应用. 中华传染病杂志 1998; 16(1): 35—36.
- 唐智敏, 陆定波, 朱清静. 中医研究丙型肝炎的进展. 中国中医基础医学杂志 1999; 4(4): 56—59.

(收稿 2001-09-20 修回 2003-01-30)