维普资讯 http://www.cqvip.com

39-40



文章编号：0253-3626（2000）01-0039-02

13

# 广西叶下珠抗鸭乙型肝炎病毒的实验研究

陈压西，郭树华，齐珍元，张定凤
（重庆医科大学病毒性肝炎研究所 400010）

R512.62

**摘 要** 用重庆麻鸭乙型肝炎动物模型，观察广西叶下珠体内抗鸭乙型肝炎病毒（DHBV）的作用。用广西叶下珠治疗1月、检测用药前后血清中的DHBV DNA及转氨酶、肝组织病理等。广西叶下珠用药2周、1月能使血清DHBV DNA总体水平显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$），且停药后DNA滴度回升不明显。血清转氨酶检查及肝脏常规HE染色病理检查未发现叶下珠对肝脏有明显的毒性损害。广西叶下珠在体内有抗鸭乙型肝炎病毒的作用。

**关键词** 广西叶下珠；鸭乙型肝炎病毒；动物模型
**中国图书分类法分类号**：R512.6 **文献标识码**：A **收稿日期**：1999-05-18

# Experimental study on the effect of Guangxi phyllanthus urinaria on anti-duck hepatitis B virus

*CHEN Ya-xi*, et al
Institute For Viral Hepatitis

**Abstract**: The purpose of this work was to study the effect of Guangxi Phyllanthus urinaria on anti-duck hepatitis virus(DHBV) in vivo and provide an experimental basis for clinical treatment of patients with hepatitis B. The Chongqing duck hepatitis B virus model was treated with Phyllanthus urinaria once a day for a month at doses of 1g/kg、5g/kg、10g/kg of body weight. DHBV DNA in serum was detected four times from the beginning to the end of the treatment, ALT and AST in serum were detected simultaneously. Phyllanthus urinaria could significantly lower the serum DHBV DNA level. After 1 week stopping treatment, serum DHBV DNA concentrations in Phyllanthus urinaria-treated ducks did not increase significantly. The study confirms the safety and potent antihepadnaviral activity of Phyllanthus urinaria in vivo.

**Key words:** Phyllanthus urinaria; Duck hepatitis B virus; Animal model

中草药叶下珠（Phyllanthus urinaria）与苦味叶下珠（Phyllanthus amarus）同为一属，为大戟科植物，是近年发现的比较有苗头的抗乙型肝炎病毒中药，其抗病毒机制目前尚不清楚。本研究在不同产地叶下珠抗鸭乙型肝炎病毒的实验研究[1]基础上进一步探讨了广西叶下珠不同剂量、不同疗程的抗病毒效果，为临床治疗肝炎病人提供实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 受试药物与试剂** 叶下珠，原产地广西，经生药学鉴定其原植物为Phyllanthus urinaria。将新鲜叶下株洗净晒干、全草入药，打碎成粉末，制成不同剂量的胶囊备用。阳性对照药物阿昔洛韦，湖北潜江市制药厂出品，批号04100302。地高辛标记药盒购自德国Boehringer Mannheim公司。

**1.2 动物模型** 采用健康成年的重庆麻鸭产的蛋孵化的1日龄雏鸭，经腹腔接种0.1ml DHBVDNA阳性病毒血清。接种1周后，分别颈外静脉抽血，用地高辛标记的DHBV DNA探针经斑点杂交检测筛选出感染阳性鸭作为实验动物，饲养至2周龄。

**1.3 实验分组及用药** 将DHBV DNA阳性的1月龄鸭60只随机分为5组：①病毒对照组，用生理盐水，于每日清晨腹腔注射，剂量为1ml.kg/d。②阳性药物对照组，用阿昔络韦，每日腹腔注射1次，剂量为100mg.kg/d。③广西叶下珠小剂量组，剂量为1g.kg/d。④广西叶下珠中剂量组，剂量为5g.kg/d。⑤广西叶下珠大剂量组，剂量为10g.kg/d。广西叶下珠各组于每日清晨空腹灌喂，实验用药时间为1月。

**1.4 观察指标**

1.4.1 血清DHBV DNA改变情况：于用药前、用药2周、用药1月、停药1周分别颈外静脉抽血，分离血清于-20 ℃保存待检。采用斑点杂交法，用地高辛探针将用药前后的血清统一对比检测，以与探针同源的质粒DNA倍比稀释后点样于硝酸纤维薄膜上杂交显示的斑点颜色深浅为标准，与待检血清斑点杂交斑点颜色深浅比较来半定量。

1.4.2 于用停药后1周将实验动物分别剖杀，取小块肝组织固定于10%甲醛溶液，作常规HE染色病理检查。

1.4.3 各组于用药1月、停药1周分别抽血检测鸭血清中谷丙

作者介绍：陈压西（1969-02出生），女，讲师，硕士

维普资讯 http://www.cqvip.com



表 用药前后血清DHBV DNA滴度改变情况($\bar{x}\pm s$)

| 组　别 | 例数(只) | logDHBV DNA(pg/μl) 用药前 | 用药2周 | 用药1月 | 停药1周 |
|---|---|---|---|---|---|
| 病毒对照组 | 12 | 1.67±0.99 | 2.00±0.95 | 2.00±1.21 | 2.33±0.99 |
| 阳性药对照组 | 11 | 2.27±1.10 | 1.27±0.65** | 1.00±0.89** | 2.09±1.22 |
| 广西叶下珠小剂量组 | 12 | 2.83±1.34 | 1.83±1.12* | 2.00±1.28* | 1.75±0.97** |
| 广西叶下珠中剂量组 | 13 | 2.46±1.13 | 1.46±0.67** | 1.46±0.88* | 1.62±0.77** |
| 广西叶下珠中剂量组 | 12 | 2.58±1.31 | 0.92±0.52** | 0.25±0.45** | 1.08±0.79** |

注：*：$P<0.05$　**：$P<0.01$　统计学采用配对t检验，为不同用药时间DHBV DNA滴度与同组用药前的滴度比较。

转氨酶(ALT)及谷草转氨酶(AST)的变化情况。

## 2 结　果

### 2.1 用药前、中、后血清DHBV DNA改变情况

除病毒对照组外，阳性药物对照组、广西叶下珠小、中、大剂量组用药2周、1月分别与同组用药前比较，均有DHBV DNA总体水平降低（$P>0.05$或$P<0.01$）；停药1周后阳性药对照组有DNA滴度回升现象，而广西叶下珠各剂量组DNA滴度总体回升现象不明显（见表）。此外，各用药组部分鸭血清病毒DNA有阴转效果，叶下珠小、中、大剂量组用药1月DNA阴转率分别为16.67%、15.39%、25%，它们的阴转率统计学上无明显差异。无论DHBV DNA滴度的降低还是阴转例数的多少，似与广西叶下珠的剂量大小无明显关系。

**2.2 肝脏HE染色病理检查**　各组均有不同程度肝细胞空泡变性、肿胀，部份可见小叶间隔及汇管区炎症细胞浸润，少数有肝细胞嗜酸变，未发现肝细胞坏死现象，所有这些改变广西叶下珠用药组与病毒对照组相比，无显著性差异。

**2.3 用药1月、停药1周血清转氨酶改变情况**　各用药组与病毒对照组相比，同一时相内血清谷丙转氨酶及血清谷草转氨酶无显著性差异($P>0.05$)。

## 3 讨　论

DHBV与人乙型肝炎病毒(HBV)同属嗜肝DNA病毒科（Hepadnavirus），DHBV感染鸭作为研究人类乙型肝炎发病机理、病毒复制过程及筛选有效治疗药物的鸭乙肝动物模型的应用日益增多。1~3日龄雏鸭感染DHBV可维持长期病毒血症而无明显自然转阴现象[2]。因此，我们应用鸭乙肝动物模型进行广西叶下珠抗病毒作用的考核，为临床治疗肝炎病人提供参考资料。

近年，国内外研究证实叶下珠有较强的抗乙型肝炎病毒、抗肝细胞损伤及预防肝癌的作用[3、4]，但叶下珠的疗效与产地、采集时间和植物的品种的准确鉴定有密切关系。目前，已从苦味叶下珠分离得到叶下珠素、叶下珠次素、株子草素、株子草次素、叶下珠新素等活性成分，其中许多成分具有抗病毒的活性。本实验应用广西叶下珠全草入药，观察其抗病毒效果，实验结果表明：用药2周、1月后广西叶下珠各剂量组血清DHBV DNA滴度总体水平均有显著降低，且停药后DNA回升现象不明显，提示此药有一定抑制病毒的作用及远期抑制病毒的效果。此外，该药抑制病毒的效果与剂量大小及疗程的关系不明显，小剂量的广西叶下珠用药2周即显示较明显抑制病毒的效果。肝脏病理检查及血清转氨酶检查发现，广西叶下珠各剂量组连续用药1月，对肝组织无明显的毒性损害，是否有明确的保护肝功能作用未被证实。究竟是广西叶下珠中何种活性成分或几种成分协同发挥抗病毒作用，是需要我们更深入研究的课题。

## 参 考 文 献

[1] 陈压西，郭树华，张定凤，等. 不同产地叶下珠及其联合用药抗鸭乙型肝炎病毒的实验研究[J].中国中西医结合杂志,1995；15(4):225~227

[2] 陈压西、郭树华、张定凤，等、重庆麻鸭乙肝动物模型的建立及应用[J].中西医结合肝病杂志,1994;4:25~27

[3] Venkateswaran PS,Millman I,Blumberg BS, et al.Effects of an extract from phyllanthus niruri on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses:In vitro and in vivo studies[J].Proc.Natl.Acad. Sci USA.1987;84:274~279

[4] Blumberg BS.Hepatitis B virus and primary hepatocellular carcinoma:treatment of HBV carriers with phyllanthus amarus[J]. Vaccine .1990;8(S):86