

# HH胶囊体外抗乙型肝炎病毒的作用及其机制

张传涛, 廖志航, 吴疆, 范昕建, 孟宪丽, 陈东辉

**背景资料**  
慢性病毒性乙型肝炎(简称慢性乙型肝炎)呈世界性流行,我国是慢性乙型肝炎的高发地区。慢性乙型肝炎严重危害我国人民的生命健康,而对于慢性乙型肝炎的治疗,目前仍无理想的药物及方法,因此寻找安全有效的抗乙型肝炎病毒(HBV)药物十分迫切。

张传涛, 范昕建, 孟宪丽, 成都中医药大学 四川省成都市 610075  
廖志航, 陈东辉, 四川省中医药科学院 四川省成都市 610041  
吴疆, 四川大学华西医院 四川省成都市 610041  
张传涛, 博士, 主要从事中医药防治病毒性肝炎研究。  
国家“十一五”科技支撑计划基金资助项目, No. 2007BAI40B03  
成都中医药大学博士研究生创新基金资助项目  
作者贡献分布: 张传涛与范昕建对此文贡献均等; 此课题由张传涛与范昕建设计; 研究过程由张传涛与吴疆操作完成; 药物制备由孟宪丽指导完成; 研究所用试剂及分析工具由廖志航与陈东辉提供; 数据分析由陈东辉与廖志航完成; 本论文写作由张传涛与范昕建完成; 吴疆、廖志航及陈东辉负责文献检索。  
通讯作者: 范昕建, 教授, 博士, 610075, 四川省成都市十二桥路 37号, 成都中医药大学. zct801012@126.com  
电话: 028-66990507  
收稿日期: 2009-12-05 修回日期: 2010-01-05  
接受日期: 2010-01-19 在线出版日期: 2010-03-08

## Anti-hepatitis B virus effects of HH Capsules *in vitro* and potential mechanisms involved

Chuan-Tao Zhang, Zhi-Hang Liao, Jiang Wu, Xin-jian Fan, Xian-Li Meng, Dong-Hui Chen

Chuan-Tao Zhang, Xin-Jian Fan, Xian-Li Meng, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 60075, Sichuan Province, China  
Zhi-Hang Liao, Dong-Hui Chen, Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, Sichuan Province, China  
Jiang Wu, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China  
Supported by: the National Key Technology R&D Program during the 11th Five-Year Plan Period, No. 2007BAI40B03; and the Doctoral Innovation Fund of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine  
Correspondence to: Professor Xin-Jian Fan, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 37 Shierqiao Road, Chengdu 610075, Sichuan Province, China. zct801012@126.com  
Received: 2009-12-05 Revised: 2010-01-05  
Accepted: 2010-01-19 Published online: 2010-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the anti-hepatitis B virus effects of HH Capsules in HepG 2.2.15 cell line and explore potential mechanisms involved.

**METHODS:** HepG2.2.15 cells were randomly divided into blank control group, positive control group (lamivudine), and HH Capsule group. The HH Capsule group was further divided into ten subgroups according to the concentration of

HH Capsules used. Drug toxicity was detected using Cell Counting Kit-8 (CCK-8). Hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and hepatitis B virus e antigen (HBeAg) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Hepatitis B virus DNA (HBV DNA) was measured by fluorescence-based quantitative polymerase chain reaction (PCR). The expression of 2'5'-oligoadenylate synthetase (2'5'-OAS) and RNA-dependent protein kinase (PKR) mRNAs and proteins was detected by fluorescence-based quantitative PCR and Western blot, respectively.

**RESULTS:** The half toxic concentration ( $TC_{50}$ ) of HH Capsules is 2.113 g/L. HH Capsules at concentrations of 312, 156, 78 and 39 mg/L could reduce the quantity of extracellular HbsAg ( $0.834 \pm 0.008$ ,  $1.021 \pm 0.011$ ,  $1.347 \pm 0.017$  and  $1.548 \pm 0.015$  vs  $2.593 \pm 0.008$ ) and HbeAg ( $0.285 \pm 0.007$ ,  $0.462 \pm 0.008$ ,  $0.565 \pm 0.009$  and  $0.733 \pm 0.008$  vs  $1.334 \pm 0.007$ ). HH Capsules at concentrations of 312 and 156 mg/L could reduce intracellular HBV DNA [ $(3.423 \pm 0.110) \times 10^9$  copies/L and  $(3.640 \pm 0.082) \times 10^9$  copies/L vs  $(6.857 \pm 0.060) \times 10^9$  copies/L] and extracellular HBV DNA levels ( $6\ 547 \pm 87$  and  $7\ 710 \pm 62$  vs  $24\ 300 \pm 200$ ). HH Capsules at a concentration of 312 mg/L could up-regulate the expression of intracellular OAS ( $0.885 \pm 0.038$  vs  $0.688 \pm 0.068$ ) and PKR mRNAs ( $0.139 \pm 0.06$  vs  $0.058 \pm 0.005$ ) and proteins.

**CONCLUSION:** HH Capsules can exert anti-hepatitis B virus effects *in vitro* perhaps by up-regulating the expression of OAS and PKR mRNAs and proteins.

**Key Words:** HH Capsules; Hepatitis B virus; Oligoadenylate synthetase; RNA-dependent protein kinase

Zhang CT, Liao ZH, Wu J, Fan XJ, Meng XL, Chen DH. Anti-hepatitis B virus effects of HH Capsules *in vitro* and potential mechanisms involved. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(7): 652-656

## 摘要

**目的:** 研究HH胶囊体外抗乙型肝炎病毒的作用及其对抗病毒蛋白2'5'-寡腺苷酸合成酶

**同行评议者**  
王凯, 教授, 山东大学齐鲁医院肝病科

(2'5'-Oligoadenylate Synthetase, 2'5'-OAS)、RAN依赖蛋白激酶(RAN-dependent protein kinase, PKR)的影响。

方法: HepG2.2.15是目前最常用的乙型肝炎病毒感染的体外实验模型, 将细胞随机分为空白对照组、阳性对照组(3TC)、不同浓度的HH胶囊组。用CCK-8检测药物细胞毒性, 酶联免疫法检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎病毒e抗原(HBeAg); 荧光定量聚合酶链反应法检测乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(HBV DNA); 用Western blot、荧光定量PCR方法分别检测细胞内抗病毒蛋白2'5'-OAS、PKR及其mRNA水平。

结果: HH胶囊的 $TC_{50}$ 是2.11 g/L、312.00 mg/L、156.00 mg/L、78.00 mg/L、39.00 mg/L HH胶囊均可以降低细胞外HBeAg( $0.285 \pm 0.007$ ,  $0.462 \pm 0.008$ ,  $0.565 \pm 0.009$ ,  $0.733 \pm 0.008$  vs  $1.334 \pm 0.007$ )和HbsAg( $0.834 \pm 0.008$ ,  $1.021 \pm 0.011$ ,  $1.347 \pm 0.017$ ,  $1.548 \pm 0.015$  vs  $2.593 \pm 0.008$ )水平, 312.00 mg/L、156.00 mg/L HH胶囊均可以减低细胞内乙型肝炎病毒DNA[( $3.423 \pm 0.110$ ) $\times 10^9$  copies/L, ( $3.640 \pm 0.082$ ) $\times 10^9$  copies/L vs ( $6.857 \pm 0.060$ ) $\times 10^9$  copies/L]、细胞外乙型肝炎病毒DNA( $6\ 547 \pm 87$ ,  $7\ 710 \pm 62$  vs  $24\ 300 \pm 200$ ), 312.00 mg/L HH胶囊可以增加细胞内OAS mRNA( $0.885 \pm 0.038$  vs  $0.688 \pm 0.068$ )、PKR mRNA( $0.139 \pm 0.06$  vs  $0.058 \pm 0.005$ )表达及其OAS、PKR蛋白水平。

结论: HH胶囊具有良好的抗乙型肝炎病毒作用, 推测可能与增加细胞内OAS、PKR及其mRNA水平有关。

关键词: HH胶囊; 乙型肝炎病毒; 寡腺苷酸合成酶; RAN依赖蛋白激酶

张传涛, 廖志航, 吴疆, 范昕建, 孟宪丽, 陈东辉. HH胶囊体外抗乙型肝炎病毒的作用及其机制. 世界华人消化杂志 2010; 18(7): 652-656  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/652.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)呈世界性流行, 我国是慢性病毒性乙型肝炎(简称慢性乙型肝炎)的高发地区, 慢性乙型肝炎严重危害我国人民的生命健康, 而对于慢性乙型肝炎的治疗, 目前仍无理想的药物及方法, 因此寻找安全有效的抗HBV药物十分迫切。HepG2.2.15细

胞是一种转染了人HBV DNA的人肝癌细胞株, 能持续而稳定地表达HBsAg、HBeAg、HBV DNA, 是目前筛选抗HBV新药的最常用细胞模型。HH胶囊是我们长期临床治疗慢性乙型肝炎的经验方, 我们在国家“十一五”科技支撑计划项目资助下对HH胶囊进行了一系列的新药开发研究, 现将HH胶囊体外抗HBV作用及部分作用机制研究结果报道如下。

## 1 材料和方法

1.1 材料 HepG2.2.15细胞由四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室保种, 细胞接种在含100 mL/L胎牛血清的1640培养液中, 在37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>、95%湿度的培养箱中培养, 实验过程中每周用G418筛选。拉米夫定(3TC, 葛兰素史克)用二亚基亚砒(DMSO)溶解于培养液, 稀释成不同浓度<sup>[1]</sup>。HH胶囊由黄连6 g、虎杖15 g、赶黄草15 g、甘草5 g等组成, 由四川省中医药科学院制备水、醇提取物后, 用DMSO溶解于培养液<sup>[2]</sup>。CCK-8试剂盒(碧云天生物), 原装特优级胎牛血清(赛默飞世尔生物), G418(Sigma), RPMI 1640培养基干粉(Gibco), 基因扩增仪(Bio-Rad), CO<sub>2</sub>培养箱(Sanyo), 垂直板电泳转移装置(上海天能生物), 电泳仪(北京君意), PVDF膜(Whatman), 化学发光试剂(ShineGene), OAS/PKR一抗(Santa Cruz), 内参一抗(Santa Cruz)。

## 1.2 方法

1.2.1 药物毒性实验: 将浓度为 $1.0 \times 10^8$ /L的细胞悬液接种于96孔板, 细胞分为3个浓度3TC(300.00、200.00、100.00 mg/L)、10个浓度HH组(5.00 g/L、2.50 g/L、1.25 g/L、625.00 mg/L、312.00 mg/L、156.00 mg/L、78.00 mg/L、39.00 mg/L、20.00 mg/L、10.00 mg/L)、0.1% DMSO、空白组, 每组4复孔, 每孔100  $\mu$ L, 48 h换液1次, 分别在第48、96、144 h进行细胞毒性实验<sup>[3]</sup>, 用酶标仪读取A值, 波长450/650 nm。计算药物对细胞抑制百分率(%) = (对照孔平均A值-试验孔平均A值)/对照孔平均A值 $\times 100\%$ , 半数毒性浓度( $TC_{50}$ )计算公式<sup>[4]</sup>:  $TC_{50} = \text{Antilog}[B + (50 - <50\% \text{抑制百分率}) / (>50\% \text{抑制百分率} - <50\% \text{抑制百分率}) \times C]$ , 式中C = A-B, A =  $\log(>50\% \text{药物浓度})$ , B =  $\log(<50\% \text{药物浓度})$ 。

1.2.2 HH胶囊的药效学实验: 将细胞悬液接种于24孔板, 分为DMSO组、3TC组(200.00 mg/L)、4个HH浓度组(312.00、156.00、78.00、39.00 mg/L), 每组4复孔, 每孔600  $\mu$ L, 48 h换液1次,

研发前沿  
研发安全有效的抗HBV药物是目前病毒性肝炎防治领域的热点、重点。

相关报道  
一些专家学者对中医药防治慢性乙型肝炎进行了系列研发, 总结出一系列有效的方药, 如复方六月雪、参灵益肝颗粒、白背叶根、青蒿素、野老鹳草、虎杖、大黄、蕲麻。JAK-STAT信号转导通路是目前临床使用的许多抗HBV药物如3TC、干扰素等发挥抗病毒作用的途径之一。

### 创新盘点

本研究采用荧光定量PCR、Western blot技术,探讨了HH胶囊体外抗HBV作用,检测细胞内外HBV DNA,并首次初步探讨了HH胶囊体外对JAK-STAT信号转导通路部分信号的影响。

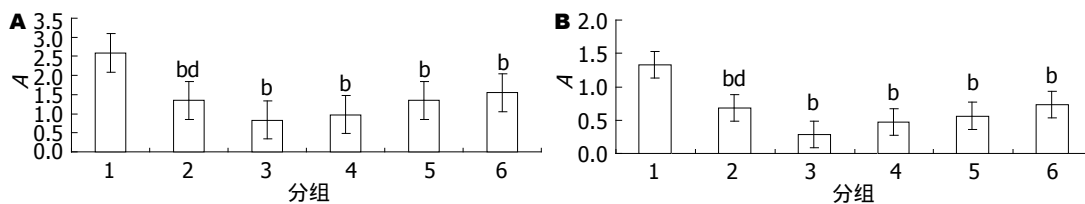


图1 HH胶囊对HBsAg及HBeAg的影响。A: HBsAg; B: HBeAg。1: DMSO组; 2: 3TC组; 3: HH(312.00 mg/L)组; 4: HH(156.00 mg/L)组; 5: HH(78.00 mg/L)组; 6: HH(39.00 mg/L)组; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs DMSO组, <sup>bd</sup> $P < 0.01$  vs HH(312 mg/L)组。

144 h时分别收集细胞上清及细胞,  $-80^{\circ}\text{C}$ 冻存, 待测。

**1.2.3 上清HBsAg、HBeAg检测:** 采用酶联免疫检测试剂盒(上海科华生物)检测上清HBsAg、HBeAg, 严格按试剂盒说明书操作。药物对HBsAg/HBeAg的抑制百分率 =  $(A_{\text{对照孔}} - A_{\text{实验孔}}) / A_{\text{对照孔}} \times 100$ 。50%抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )是对HBsAg、HBeAg抑制率为50%时浓度。

**1.2.4 培养上清中HBV DNA检测:** 采用荧光定量PCR检测试剂盒(达安基因)检测上清中HBV DNA, 严格按试剂盒说明书操作。药物对HBV DNA的抑制率 =  $(\text{对照组HBV DNA拷贝数} - \text{实验组HBV DNA拷贝数}) / \text{对照组HBV DNA拷贝数} \times 100\%$ 。

**1.2.5 细胞内中HBV DNA检测:** 采用DNA提取试剂盒(天根生化)提取细胞内总DNA, 采用荧光定量PCR检测试剂盒(达安基因)检测细胞内HBV DNA, 严格按试剂盒说明书操作。药物对HBV DNA的抑制率 =  $(\text{对照组HBV DNA拷贝数} - \text{实验组HBV DNA拷贝数}) / \text{对照组HBV DNA拷贝数} \times 100\%$ 。

以治疗指数(TI)评价药物临床应用前景,  $\text{TI} = \text{TC}_{50} / \text{IC}_{50}$ ,  $\text{TI} > 2$ 为有效低毒,  $2 > \text{TI} > 1$ 为低效有毒,  $\text{TI} < 1$ 为有毒性作用。以药物作用第144 h的TI为标准。

**1.2.6 HH胶囊作用机制研究实验:** 将浓度 $1.0 \times 10^8$ /L的细胞悬液接种于12孔板, 分为DMSO组、3TC组(200.00 mg/L)、2个HH浓度组(312 mg/L、78 mg/L), 每组3复孔, 每孔1 000  $\mu\text{L}$ , 48 h换液1次, 144 h时收集细胞,  $-80^{\circ}\text{C}$ 冻存, 待测。

**1.2.7 细胞内OAS、PKR mRNA的荧光定量PCR检测:** 根据互联网生物信息资源辅助设计引物序列为: OASF: CAAGGTGGTAAAGGGTGGCT; OASR: CAACTTCACGGAAAATGCTCT, 191 bp; PKRF: TAACGAGAAGGCGGAGCG; PKRR: CCATTTGGATGAAAAGGCACT, 197 bp; TRIzol一步法提取细胞总RNA, 取2  $\mu\text{g}$ 细胞总RNA为模板进行逆转录, 行PCR反应时, 取1

$\mu\text{L}$ 逆转录得到的cDNA为模板, 待测基因引物浓度按30 pmol/50  $\mu\text{L}$ 体系进行扩增, PCR扩增条件为 $94^{\circ}\text{C}$  4 min;  $94^{\circ}\text{C}$  0.5 min;  $60^{\circ}\text{C}$  0.5 min;  $72^{\circ}\text{C}$  0.5 min, 循环35次;  $72^{\circ}\text{C}$ 检测信号。

**1.2.8 细胞内OAS、PKR蛋白Western blot检测<sup>[5]</sup>:** 待测细胞用蛋白质裂解液裂解30 min, 13 000 r/min,  $4^{\circ}\text{C}$ 离心20 min, 取含50  $\mu\text{g}$ 总蛋白的上清液以12% SDS-PAGE凝胶电泳, 过夜转膜后, 在摇床上室温封闭4 h, 膜置于含1:500一抗或1:3 000内参一抗的封闭液孵育3 h, Tris碱-氯化钠-吐温20洗液(TBST)洗膜3次, 1:5 000浓度加入二抗孵育1.5 h, TBST洗膜3次, 将化学发光试剂加于膜上, 立即在暗室曝光、洗片, 对胶片进行扫描, 然后用UVP凝胶图像处理系统Labworks4.6软件分析目的条带的灰度值。

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计分析软件, 不同组之间进行 $t$ 检验分析, 数据用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。

## 2 结果

**2.1 实验药物对细胞毒性实验** 3个浓度3TC、0.1% DMSO对2.2.15细胞均无细胞毒性, 但HH胶囊对细胞有一定细胞毒性, 且毒性具有浓度依赖性, HH胶囊的 $\text{TC}_{50}$ 是2.11 g/L。

**2.2 HH胶囊对上清中HBeAg、HBsAg影响** 312.00、156.00、78.00、39.00 mg/L的HH胶囊可以减低上清中HBeAg( $0.285 \pm 0.007$ 、 $0.462 \pm 0.008$ 、 $0.565 \pm 0.009$ 、 $0.733 \pm 0.008$  vs  $1.334 \pm 0.007$ )、HBsAg( $0.834 \pm 0.008$ 、 $1.021 \pm 0.011$ 、 $1.347 \pm 0.017$ 、 $1.548 \pm 0.015$  vs  $2.593 \pm 0.008$ ), 312.00 mg/L HH胶囊对HBeAg、HBsAg抑制作用强于3TC组( $0.285 \pm 0.007$  vs  $0.684 \pm 0.008$ ;  $0.834 \pm 0.008$  vs  $1.346 \pm 0.020$ ), 提示HH胶囊对2.2.15细胞分泌的HBeAg、HBsAg具有抑制作用(图1)。

**2.3 HH胶囊对细胞内、外HBV DNA影响** 312.00、156.00 mg/L HH胶囊均可以减低细胞内HBV DNA内( $3.423 \pm 0.110$ 、 $3.640 \pm 0.082$  vs  $6.857 \pm 0.060$ ,  $\times 10^9$  copies/L)、细胞外HBV

### 应用要点

本研究将JAK-STAT信号转导通路引入到中药抗HBV研究中, 为以后中药抗HBV研究提供思路。

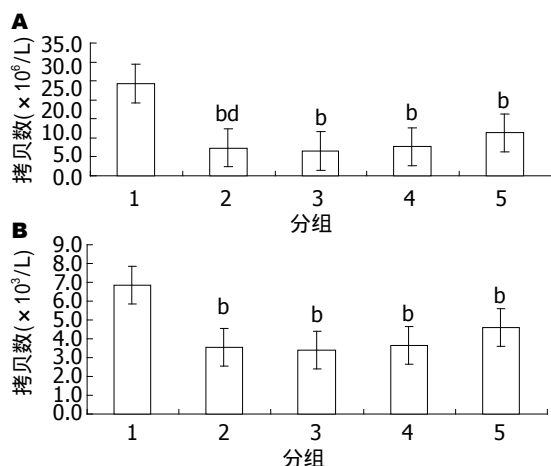


图 2 HH胶囊对细胞内外HBV DNA影响. A: 细胞外, B: 细胞内. 1: DMSO组; 2: 3TC组; 3: HH(312 mg/L)组; 4: HH(156 mg/L)组; 5: HH(78 mg/L)组, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs DMSO组, <sup>a</sup>*P*<0.01 vs HH(312 mg/L)组.

DNA(6 547 ± 87、7 710 ± 62 vs 24 300 ± 200), 312.00 mg/L HH胶囊对细胞外HBV DNA抑制作用强于3TC组(6 547 ± 87 vs 7 326 ± 25), 提示HH胶囊可以降低细胞内、外HBV DNA水平(图2).

**2.4 HH胶囊对细胞内OAS、PKR mRNA影响** 312.00 mg/L HH胶囊、3TC可以增加细胞内OAS(0.885 ± 0.038、0.791 ± 0.018 vs 0.688 ± 0.068)、PKR mRNA(0.139 ± 0.06、0.089 ± 0.003 vs 0.058 ± 0.005)水平(图3).

**2.5 HH胶囊对细胞内OAS、PKR蛋白影响** HH胶囊可以增加细胞内OAS、PKR蛋白水平, 与空白组比较, 高浓度HH组差异有统计学意义(*P*<0.01, 图4).

### 3 讨论

中医药是我国的特色和优势, 众多专家学者对中医药防治慢性乙型肝炎进行了系列研发, 总结出一系列有效的方药, 如复方六月雪、参灵益肝颗粒、白背叶根、青蒿素、野老鹳草、虎杖、大黄、蕨麻<sup>[1-2,6-11]</sup>. HH胶囊由黄连、赶黄草、虎杖、甘草等多味中药组成, 具有清热祛湿解毒等功能, 是我们长期临床治疗毒性乙型肝炎的经验基础方, 我们在临床实践中发现具有较好的抗HBV、保肝作用, HH胶囊在国家“十一五”科技支撑计划项目资助下进行了抗HBV开发研究.

为了使HH胶囊中复方成分很好的溶解到培养液中, 我们采用0.1% DMSO作为助溶剂, 药物对细胞毒性实验中, 我们发现0.1% DMSO、3个浓度3TC对2.2.15细胞是无毒性的, 高浓度的HH胶囊对2.2.15细胞有一定毒性, 并且HH胶

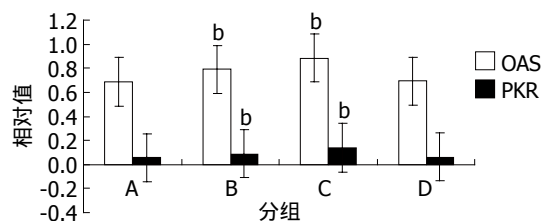


图 3 HH胶囊对OAS、PKR mRNA影响. A: DMSO组; B: 3TC组; C: HH(312 mg/L)组; D: HH(78 mg/L)组, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs DMSO组.

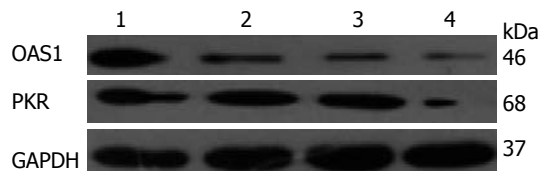


图 4 HH胶囊对细胞内OAS、PKR蛋白影响. 1: HH高浓度组; 2: HH低浓度组; 3: 3TC组; 4: 空白对照组

囊细胞毒性具有浓度依赖性, HH胶囊的TC<sub>50</sub>是2.11 g/L, HBeAg、HBsAg的IC<sub>50</sub>若分别按78.00 mg/L、156.00 mg/L算, HBeAg、HBsAg的TI分别是27、14, 所以HH胶囊对HBeAg、HBsAg的实际TI分别大于27、14, 均大于2, 提示HH胶囊抗HBV低毒有效, 具有良好的新药应用前景.

本次实验药效学研究揭示HH胶囊可以不同程度地降低培养上清中HBsAg、HbeAg、细胞内外的HBV DNA, 312.00 mg/L HH胶囊对HBeAg、HBsAg、细胞外HBV DNA抑制作用强于200.00 mg/L 3TC组(*P*<0.01), 但是在抑制细胞内HBV DNA方面二者无明显差异(*P*>0.05), 提示HH胶囊体外具有直接抗HBV作用, 另外HH胶囊中的部分单味药或单体已被开发为治疗慢性乙型肝炎的临床新药, 并取得良好效果<sup>[12,13]</sup>, 所以HH胶囊有望开发为临床抗HBV新药.

JAK-STAT信号转导通路是目前临床使用的许多抗HBV药物如3TC、干扰素等发挥抗病毒作用的途径之一, 这些药物通过调控该信号转导通路诱导产生抗病毒蛋白2'5'-OAS、PKR而发挥抗病毒作用的<sup>[14-16]</sup>, 研究抗HBV药物对JAK-STAT信号通路影响已经成为目前该领域研究热点, 但是目前JAK-STAT信号转导通路尚未应用于中医药抗HBV研究领域, 在中医药抗HBV研究领域尚属空白, 所以本次药物的机制学研究中引入JAK-STAT信号转导通路, 采用荧光定量PCR、Western blot方法初步探讨了HH胶囊对该信号通路的效应产物抗病毒蛋白OAS、PKR影响, 具有较高的创新性. 本研究结果提示HH胶囊可以增强2.2.15细胞内OAS、PKR及其mRNA表

**名词解释**  
CCK-8试剂盒: Cell Counting Kit-8简称CCK-8试剂盒, 是一种基于WST-8的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速高灵敏度检测试剂盒. WST-8是一种类似于MTT的化合物, 是MTT的一种升级替代产品, 和MTT或其他MTT类似产品如XTT、MTS等相比有明显的优点, 故逐渐广泛应用于细胞增殖和细胞毒性实验.

**同行评价**  
本文选题明确,具有一定的创新性,实验方法简单可靠,可重复性强,文题较准确反映了研究工作的科学问题和特定内容,可读性强。

达水平,进而引起病毒mRNA降解和抑制蛋白质合成达到抗HBV效果,推测HH胶囊抗HBV作用可能与增强2.2.15细胞内OAS、PKR及其mRNA表达水平有关,调控JAK-STAT信号转导通路有可能是HH胶囊抗HBV作用的机制之一,当然还有必要对JAK-STAT信号转导通路中其他信号进行研究、验证。

总之,本次研究不仅从体外实验研究了HH胶囊抗HBV作用,为HH胶囊申报临床新药提供依据,以降低病毒性肝炎的死亡率及其造成的经济损失,具有重要社会意义;另外本研究还首次从信号转导通路的角度探讨了HH胶囊抗HBV作用机制,有一定的学术创新价值。当然,体外实验毕竟不能完全模拟体内过程,我们正在进一步采用鸭乙型肝炎、HBV转基因小鼠等模型进行体内实验进行验证。

#### 4 参考文献

- 1 Li J, Huang H, Feng M, Zhou W, Shi X, Zhou P. In vitro and in vivo anti-hepatitis B virus activities of a plant extract from *Geranium carolinianum* L. *Antiviral Res* 2008; 79: 114-120
- 2 Romero MR, Efferth T, Serrano MA, Castaño B, Macias RI, Briz O, Marin JJ. Effect of artemisinin/artesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an "in vitro" replicative system. *Antiviral Res* 2005; 68: 75-83
- 3 邓展生, 张璇, 邹冬青, 许宇霞, 胡懿合. 骨碎补各种提取成分对人骨髓间充质干细胞的影响. *中国现代医学杂志* 2005; 15: 2426-2429
- 4 汪延, 方光如, 徐跃定, 冯伟民, 陶佩珍, 滕立. 螺旋藻多糖在2215细胞培养中对乙型肝炎病毒表面抗原和e抗原及HBV-DNA的抑制作用. *江苏农业学报* 2000; 16: 41-45
- 5 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术. 第2版. 北京: 北京协和医科大学出版社, 2001: 398-400
- 6 张士军, 林军, 蒋伟哲, 黄春喜, 黄仁彬. 复方六月雪对鸭乙型肝炎病毒DNA的抑制作用. *中药材* 2007; 30: 191-193
- 7 张洪泉, 葛慧, 李心, 武玉清, 陈压西. 参灵益肝颗粒抗乙型肝炎病毒作用的实验研究. *中国中西医结合杂志* 2007; 27: 244-246
- 8 Zhao YL, Cai GM, Hong X, Shan LM, Xiao XH. Anti-hepatitis B virus activities of triterpenoid saponin compound from *Potentilla anserina* L. *Phytomedicine* 2008; 15: 253-258
- 9 刘妮, 朱辨弦, 黄正昌, 朱宇同, 陈俏妍, 郭兴伯, 李国桥. 大黄醇提液对2.2.15细胞分泌HBsAg、HBeAg的抑制作用. *中药材* 2004; 27: 419-421
- 10 徐舒, 吕志平, 蔡红兵, 张晓刚, 刘强, 谭焱. 白背叶根抗鸭乙型肝炎病毒的实验研究. *中西医结合学报* 2006; 4: 285-288
- 11 Chang JS, Liu HW, Wang KC, Chen MC, Chiang LC, Hua YC, Lin CC. Ethanol extract of *Polygonum cuspidatum* inhibits hepatitis B virus in a stable HBV-producing cell line. *Antiviral Res* 2005; 66: 29-34
- 12 万军, 何基德. 甘草酸二铵注射液联合肝炎灵注射液治疗慢性乙型肝炎的疗效. *浙江中医药大学学报* 2007; 31: 319-320
- 13 杨珊明, 周建芳. 贺普丁耐药的慢性乙型肝炎联合肝炎灵或迈普新疗效观察. *实用药物与临床* 2007; 10: 147-149
- 14 张权, 魏来, 王燕. ISGF3:IFN- $\alpha$ 抗乙型肝炎病毒信号转导机制的重要因子. *中华实验和临床病毒学杂志* 2005; 19: 110-113
- 15 Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, Schindler CW. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene* 2002; 285: 1-24
- 16 管世鹤, 陆蒙古, Roggendorf M, Schlaak JF. 3TC部分调节2.2.15细胞干扰素诱导基因表达. *中华实验和临床病毒学杂志* 2005; 19: 400

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### WJG 成功通过评审被 PMC 收录

**本刊讯** PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库。此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊,并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求。

截至目前,我国只有两本期刊被PMC收录。《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊。《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录,全文免费向公众开放,见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive>(WJG编辑部主任:程剑侠 2009-03-26)