

## 壮药汗衣台对鸭乙型肝炎的治疗作用

廖丹, 马静, 段雪琳

廖丹, 马静, 段雪琳, 广西中医药大学基础医学院生理教研室 广西壮族自治区南宁市 530001

廖丹, 副教授, 主要从事感染性疾病的基础研究.

广西自然科学基金资助项目, No. 2014GXNSFAA118211

作者贡献分布: 此研究由廖丹设计; 动物饲养、抽血及药物准备由马静与廖丹完成; 指标检测由段雪琳与廖丹操作完成; 数据分析与论文撰写由廖丹完成.

通讯作者: 廖丹, 副教授, 530001, 广西省南宁市明秀东路179号, 广西中医药大学基础医学院生理教研室. dan9999@126.com  
电话: 0771-2244199

收稿日期: 2015-01-06 修回日期: 2015-01-16

接受日期: 2015-01-22 在线出版日期: 2015-03-28

### Therapeutic effect of Zhuang herb Hanyitai on duck hepatitis B

Dan Liao, Jing Ma, Xue-Lin Duan

Dan Liao, Jing Ma, Xue-Lin Duan, Department of Physiology, School of Basic Medicine, Guangxi Traditional Medical University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2014GXNSFAA118211

Correspondence to: Dan Liao, Associate Professor, Department of Physiology, School of Basic Medicine, Guangxi Traditional Medical University, 179 Mingxiu East Road, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. dan9999@126.com

Received: 2015-01-06 Revised: 2015-01-16

Accepted: 2015-01-22 Published online: 2015-03-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the therapeutic effect of Zhuang herb Hanyitai on liver function, viral replication, immune regulation and liver inflammation in a duck model infected by duck hepatitis B virus (DHBV).

**METHODS:** Duck hepatitis B was induced by intraperitoneal injection of DHBV positive

serum into one-day-old Guangxi sheldrakes. On the day before treatment (T0), 7 d (T7) and 14 d (T14) during treatment, and 3 d (P3) after treatment, jugular blood and liver tissue samples were collected to detect aspartate aminotransferase (ALT), alanine aminotransferase (AST), interleukin-2 (IL-2), DHBV DNA, and liver pathology.

**RESULTS:** In the model group, ALT, AST and IL-2 levels were significantly increased after DHBV infection for one week and two weeks ( $P = 0.028, 0.036; P = 0.005, 0.04; P = 0.045$ ), the amount of virus was relatively stable, and severe fatty degeneration was observed in liver tissues. In the lamivudine group, ALT and IL-2 levels were significantly decreased after treatment for one week and two weeks ( $P = 0.001, 0.042; P = 0.023$ ), AST level showed no significant changes, the replication of virus was significantly inhibited ( $P = 0.034; 0.007$ ), without rebounding after medication withdrawal for three days ( $P = 0.013$ ), and liver tissue pathology showed moderate liver steatosis. In the high dose Hanyitai group, ALT, AST, and IL-2 levels were significantly reduced after treatment for one week and two weeks ( $P = 0.047, 0.035; P = 0.007, 0.003; P = 0.026, 0.049$ ), the replication of virus was inhibited significantly as the lamivudine group ( $P = 0.025; P = 0.012; P = 0.011$ ), and liver tissue pathology displayed moderate liver steatosis. In the usual dose Hanyitai group, ALT, AST, and IL-2 levels were significantly reduced after treatment for one week and two weeks ( $P = 0.015; P = 0.038; P = 0.024, 0.004$ ), but at T14, ALT and AST level rebounded, the replication of virus was inhibited

### 背景资料

临床上慢性乙型肝炎的抗病毒治疗是最直接、最关键的病因治疗,很大程度上可决定疾病的病程进展及预后,但是目前临床上常用的抗病毒西药具有许多无法克服的问题,中医药及民族医药日益成为抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)新药的来源而备受关注.

### 同行评议者

白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

■ 研发前沿  
发现新的抗HBV中草药以及研究其有效性和作用机制是目前研究的热点, 明确其作用机制是研究的重点, 但是对抗HBV有效成分的分离鉴定、活性部位的作用机制等核心问题仍然不十分明确。

moderately, and moderate or severe steatosis was noted.

**CONCLUSION:** Hanyitai can reduce transaminase levels, inhibit DHBV DNA replication, and reduce IL-2 secretion in a dose-dependent manner. Hanyitai could protect liver cells, relieve hepatic steatosis, and reduce acute immunological liver injury.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hanyitai; Transaminase; Immune response; Duck hepatitis B virus; *In vivo*

Liao D, Ma J, Duan XL. Therapeutic effect of Zhuang herb Hanyitai on duck hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(9): 1395-1401 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1395.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i9.1395>

## 摘要

目的: 探讨壮药汗衣台对鸭乙型肝炎病毒(duck hepatitis B virus, DHBV)感染诱导的鸭乙型肝炎模型中肝功能、病毒复制、免疫调控及肝组织炎症方面的作用。

方法: 本研究采用DHBV阳性血清腹腔注射感染广西1日龄麻鸭诱导鸭乙型肝炎模型。于用药前(T0), 用药7 d(T7), 14 d(T14)及停药3 d(P3)于颈静脉抽血, 分别检测鸭血清中的谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、白介素-2(interleukin-2, IL-2)、DHBV DNA及肝组织病理。

结果: 模型组感染病毒1-2 wk, 鸭血清ALT、AST与IL-2水平明显升高( $P = 0.028, 0.036; P = 0.005, 0.04; P = 0.045$ ), 病毒载量表达平稳, 鸭肝组织病理检测显示重度脂肪样变性; 拉米组治疗1-2 wk, 鸭血清ALT、IL-2水平明显下降( $P = 0.001, 0.042; P = 0.023$ ), 但对AST水平无明显影响, 病毒载量被显著抑制, 停药3 d无反跳( $P = 0.034; P = 0.007; P = 0.013$ ), 肝组织病理提示中度以上脂肪变性; 汗高组治疗1-2 wk, 鸭血清ALT、AST和IL-2水平均明显降低( $P = 0.047, 0.035; P = 0.007, 0.003; P = 0.026, 0.049$ ), 对病毒的抑制疗效与拉米组相似( $P = 0.025; P = 0.012; P = 0.011$ ), 肝组织病理显示中度脂肪变性; 汗常组治疗1-2 wk, 鸭血清ALT、AST及IL-2水平

均明显降低( $P = 0.015; P = 0.038; P = 0.024, 0.004$ ), 但在T14时, ALT、AST水平均出现回升, 病毒载量呈缓慢下降趋势, 肝组织病理提示中度以上脂肪变性。

结论: 汗衣台剂量依赖性的降低转氨酶、抑制DHBV DNA复制、减少IL-2分泌, 从而保护肝细胞、减轻肝脂肪变性、降低免疫过强所导致的急性肝损伤。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 汗衣台; 转氨酶; 免疫应答; 鸭乙型肝炎病毒; 体内

核心提示: 在急性鸭乙型肝炎模型中, 汗衣台的干预治疗表现出剂量依赖性地降低转氨酶、抑制鸭乙型肝炎病毒(duck hepatitis B virus)DNA复制、减少细胞因子白介素2(interleukin-2)分泌水平的作用, 从而达到保护肝细胞、减轻肝脂肪变性、降低免疫过强所导致的急性肝损伤的目的。

廖丹, 马静, 段雪琳. 壮药汗衣台对鸭乙型肝炎的治疗作用. *世界华人消化杂志* 2015; 23(9): 1395-1401 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1395.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i9.1395>

## 0 引言

“汗衣台(壮语)”, 别称“千里找根”<sup>[1]</sup>, 为防己科植物皱波青牛胆[*Tinospora crispa*(L.) Miers]的藤茎<sup>[1-3]</sup>。据史料记载汗衣台具有通关通窍通脉、通经活血、清热排毒、消炎止痛等作用, 多用于治疗跌打骨折刀伤、痢疾腹胀、痈疽肿毒等。该属植物还具有降血糖<sup>[4-7]</sup>、降血压<sup>[8,9]</sup>、抗增殖<sup>[10]</sup>等活性。广西壮族民间流传其对慢性乙型肝炎具有良效, 我们的前期研究发现<sup>[11,12]</sup>, 汗衣台对在体外培养的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)DNA转染的人肝癌细胞株(HepG2.2.15细胞株)具有明显的抗HBV作用, 其抑制HBV DNA复制的作用呈剂量依赖性, 而且复方制剂的抗HBV疗效优于单味药, 首次证实汗衣台具有抗HBV作用, 验证了广西横县龙州一带民间药用汗衣台治疗慢性乙型肝炎的科学性。为了进一步研究汗衣台的作用机制和抗HBV疗效, 我们建立了鸭HBV(duck hepatitis B virus, DHBV)感染的鸭乙型肝炎模型, 分别给予不同剂量的汗衣台及拉

米夫定进行干预治疗, 以评价汗衣台在体内环境下, 对肝细胞膜的稳定性(转氨酶)、DHBV DNA复制情况(病毒载量)、细胞因子白介素-2(interleukin-2, IL-2)的分泌(免疫调控)及肝脏炎症(肝组织病理)等方面的作用和影响。现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 1日龄广西麻鸭24只, 雌雄不限, 体质量约50 g, 购自广西南宁市安吉禽苗兽药市场南宁安天牧业有限公司, 使用小鸭饲料常规饲养; DHBV DNA强阳性血清来自北湖市场成年麻鸭血清, 分离血清, 通过PCR检测证实为强阳性的血清; PCR引物由上海生工设计完成; 壮药汗衣台由壮族民间灵芝草药堂提供, 汗衣台干燥藤茎, 中药粉碎机碾磨成粉末, 根据鸭子体质量称取一定质量的药粉制成悬浮液备用; 拉米夫定(0.1 g/片, 葛兰素史克); 谷丙转氨酶(alanine amino transferase/glutamic pyruvic transaminase, ALT/GPT)测试盒(微板法)(南京建成); 谷草转氨酶(aspartate aminotransferase/glutamic oxaloacetic transaminase, AST/GOT)测试盒(微板法)(南京建成); Duck IL-2, IL-2 Quality Elisa Assay(Elisa Biotech); Fast Start Universal SYBR Green Master(ROX)(Roche, Germany); ABI荧光定量PCR专用96孔板(Bioplastics); ABI7500 Fast Real-time PCR仪(美国ABI公司); 酶标仪(Bio-Rad); 离心机(effend)。

## 1.2 方法

**1.2.1 鸭乙型肝炎模型的建立:** 1日龄广西麻鸭, 经腹腔注射DHBV DNA强阳性麻鸭血清, 每只0.3 mL, 感染7 d经颈静脉取血0.8 mL, 分离血清, -20 °C保存备用<sup>[13,14]</sup>。

**1.2.2 实验分组及用药:** DHBV感染7 d后, 将PCR检测出的血清DHBV DNA阳性(定性检测)麻鸭24只随机分为4个组: (1)模型对照组(模型组): 无任何干预性处理; (2)治疗对照组(拉米组): 拉米夫定, 50 mg/(kg·d); (3)汗衣台高剂量治疗组(汗高组): 450 mg/(kg·d), 是常用剂量组的3倍; (4)汗衣台常用剂量治疗组(汗常组): 150 mg/(kg·d), 常用剂量组的药物剂量符合临床常用剂量, 以 $lgS = 0.8762 + 0.6981 \times W$  [S为体表面积cm<sup>2</sup>; W为体质量(g)]公式计算出动物的等效剂量而得<sup>[15]</sup>。每组6只麻鸭, 各组麻鸭饲养

条件相同, 至DHBV感染7 d用药干预前鸭子重约80 g/只, 鸭体质量每日约增加5 g/只, 为精确起见, 每3 d给动物称质量并按体质量调整给药剂量, 灌胃给药2次/d, 连续给药14 d, 于用药前(T0), 用药7 d(T7), 用药14 d(T14), 及停药3 d(P3), 分别从颈静脉采血, 每只约0.8 mL, 分离血清后, 于-20 °C保存备用。

**1.2.3 鸭血清ALT/AST检测:** 按试剂盒说明书进行操作, 分别检测各特定时间点鸭血清中ALT及AST的变化情况。

**1.2.4 鸭血清细胞因子IL-2检测:** 按IL-2 ELISA试剂盒指南进行操作, 检测各特定时间点鸭血清IL-2的水平。

**1.2.5 鸭血清DHBV DNA的Real-time qPCR检测:** (1)PCR引物设计及标准品的制备: 根据Genbank中DHBV DNA的基因序列, 设计引物: P1: 5'-TTC TCT CAG TTC TCC AAA GG-3', P2: 5'-GTT GTC CGT CAG ATA CAG C-3', 片段长度187 bp, PCR扩增纯化后, 导入PMD18T质粒载体中, 构建PMD18T重组质粒, 纯化并以紫外分光光度计检测该重组质粒浓度达311 ng/μL, 按公式:  $[浓度(g/mL) \times 6.02 \times 10^{23}] / [660 \times (质粒DNA的碱基数)] = 拷贝/mL$ , 计算重组质粒拷贝数为 $9.85 \times 10^{19}$ , 依次稀释10倍, 可得到:  $9.85 \times 10^7$ 、 $9.85 \times 10^6$ 、 $9.85 \times 10^5$ 、 $9.85 \times 10^4$ 、 $9.85 \times 10^3$ 、 $9.85 \times 10^2$ 、 $9.85 \times 10^1$ 、 $9.85 \times 10^0$ , 8个浓度梯度的标准品。以标准品重组质粒中插入的DHBV DNA基因片段为模板设计引物, P1: 5'-ATG CGC TTT CCA AGA TAC TGG-3', P2: 5'-TGT CCG TCA GAT ACA GCA AG-3', 该引物扩增出的基因片段被包含在重组质粒插入的基因片段中, 该片段长度155 bp, 用于血清样本DHBV DNA的检测; (2)鸭血清DHBV DNA的提取: 使用加热煮沸法, 吸取鸭血清样本100 μL, 置于1.5 mL EP管中, 煮沸10 min, 15000 r/min离心5 min, 吸取上清, 于-20 °C保存备用<sup>[16]</sup>; (3)荧光定量PCR检测: 按试剂盒指南进行操作, 设置PCR反应条件为: 95 °C预变性10 min, 95 °C变性 15 s, 60 °C退火延伸60 s(收集荧光信号) 40 cycles。

**1.2.6 鸭肝脏病理检查:** 停药3 d处死实验鸭, 摘取肝脏, 各组取肝右叶同一部位1 cm×0.5 cm大小的肝组织, 40 g/L甲醛溶液固定, 石蜡包埋切片, HE染色, 光镜观察。

**统计学处理** 采用SPSS11.5统计软件分析

## □ 相关报道

目前对抗HBV中草药的筛选以及疗效研究除了应用HepG2.2.15细胞作为体外研究以外, 动物实验也是必不可少的体内实验, 体内实验由于更接近临床, 所以其指标选择范围比较广, 涉及肝功能、病毒复制、免疫因素、病理指标等, 所得结果均比较可靠和具有说服力。



创新点

本文与其他相关或类似文章最大的不同点在于对于干预机制中免疫因素所起的作用的重视。在感染性疾病不同的病程当中, 免疫因素对疾病的转归常常起到关键性的作用, 免疫干预也是一种治疗策略。

表 1 实验各组对肝功能ALT的影响 (mean ± SD, U/L)

分组	T0	T7	T14
汗高组	140.87 ± 15.94	108.13 ± 28.67 <sup>a</sup>	106.01 ± 17.70 <sup>a</sup>
汗常组	141.80 ± 28.22	103.78 ± 12.52 <sup>a</sup>	135.58 ± 29.06
拉米组	138.91 ± 9.45	79.55 ± 7.34 <sup>b</sup>	90.67 ± 8.89 <sup>a</sup>
模型组	136.22 ± 5.02	151.12 ± 0.77 <sup>a</sup>	156.90 ± 2.30 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs T0. ALT: 谷丙转氨酶. T0: 用药前; T7: 用药7 d; T14: 用药14 d.

表 2 实验各组对肝功能谷草转氨酶的影响 (mean ± SD, U/L)

分组	T0	T7	T14
汗高组	43.42 ± 4.74	17.64 ± 9.48 <sup>b</sup>	13.18 ± 3.55 <sup>b</sup>
汗常组	41.65 ± 6.01	30.29 ± 3.56 <sup>a</sup>	36.16 ± 4.12
拉米组	40.70 ± 6.87	37.56 ± 5.68	46.99 ± 8.03
模型组	39.38 ± 7.28	44.52 ± 6.31	55.84 ± 5.66 <sup>bc</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs T0; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs T7. T0: 用药前; T7: 用药7 d; T14: 用药14 d.

数据, 组间比较采用方差分析, 组内均数两两比较采用Paired-Samples *t* test. *P*<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

**2.1 实验各组对鸭乙型肝炎肝功能ALT和AST的影响** 汗高组在用药7-14 d, 鸭血清中ALT和AST水平均明显降低(*P* = 0.047, 0.035; *P* = 0.007, 0.003); 汗常组在用药7 d时, ALT和AST水平明显降低(*P* = 0.015; *P* = 0.038), 在14 d时, ALT和AST水平均出现回升; 拉米夫定在用药7-14 d时均可明显降低ALT水平(*P* = 0.001; *P* = 0.042), 而对AST的影响不明显; 模型组感染DHBV后7-14 d, 鸭血清中ALT和AST水平均明显升高(*P* = 0.028, 0.036; *P* = 0.005, 0.04), 符合急性鸭乙型肝炎模型的要求(表1, 2)。

**2.2 实验各组对鸭乙型肝炎IL-2分泌的影响** 汗高组、汗常组在用药7-14 d时均可明显抑制IL-2的分泌(*P* = 0.026, 0.049; *P* = 0.024, 0.004), 拉米夫定也显示出对IL-2分泌的抑制作用(*P* = 0.023); 而模型组, 随着时间的增加, IL-2的分泌呈上升趋势, T14时的分泌量达最高值, 明显高于感染初期的T0(*P* = 0.045)(表3)。

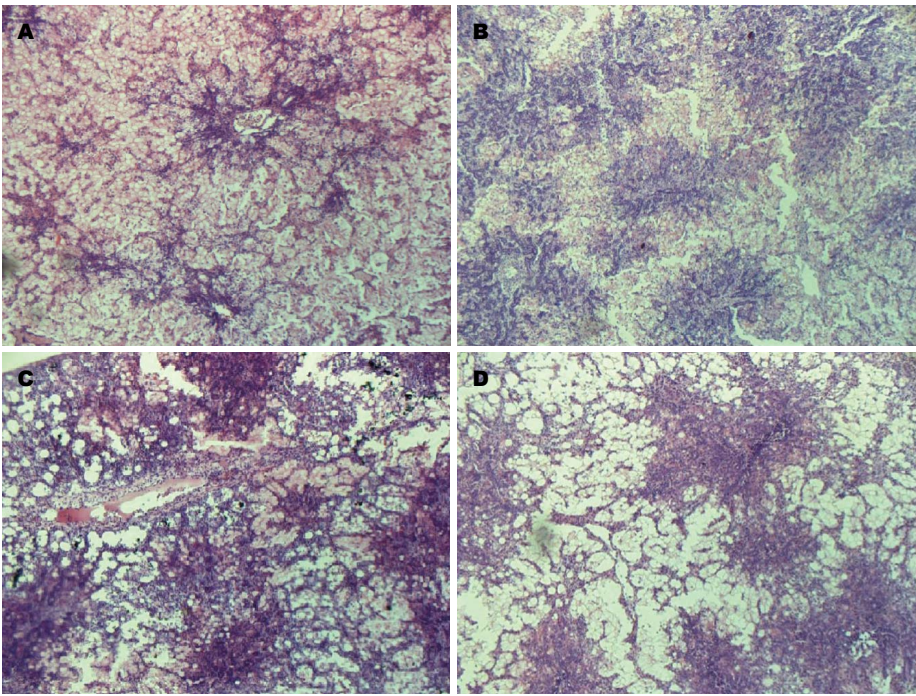
**2.3 实验各组对鸭乙型肝炎DHBV DNA复制的影响** 模型组在感染病毒1 wk后的T0-P3期间, 病毒载量呈缓慢上升继而缓慢下降的趋势, 病毒载量变化不大; 拉米夫定治疗1 wk(T7)

即表现出显著的抗病毒疗效, 第2周(T14)的病毒载量继续明显下降, 停药3 d未发现反跳(*P* = 0.034; *P* = 0.007; *P* = 0.013); 汗高组对DHBV-DNA的抑制疗效与拉米组相似, 病毒量持续明显下降, 停药3 d无反跳(*P* = 0.025; *P* = 0.012; *P* = 0.011); 汗常组在T7-T14时病毒载量呈缓慢下降趋势, 停药后继续下降(*P* = 0.031)(表4)。

**2.4 实验各组对鸭肝组织病理的影响** 对鸭肝组织病理切片行HE染色后在光学显微镜下观察, 发现DHBV感染的急性鸭乙型肝炎肝组织的主要病理改变是肝细胞广泛性的气球样变性和脂肪变性以及汇管区炎症细胞浸润, 肝组织结构基本完整, 未见有大面积的坏死。结果显示: 模型组肝细胞呈弥漫性重度脂肪变性占80%左右(图1A); 汗高组肝组织中度脂肪变性占50%左右(图1B), 汗常组与拉米组肝组织病变相似, 约占60%左右(图1C, D)。

3 讨论

DHBV与人HBV同属嗜肝DNA病毒科, 该科病毒具有相似的粒子结构、相似的生物学特性以及明确的种属特异性, 其中DHBV感染鸭一直作为研究HBV、筛选和验证中西医药物抗病毒活性的动物病毒模型<sup>[17-21]</sup>, 通过研究DHBV感染鸭来阐明嗜肝DNA病毒的致病过程及机制。张士军等<sup>[22]</sup>和陈兆霓等<sup>[23]</sup>对广西麻鸭DHBV易感性的调查发现, DHBV诱导



**应用要点**  
本文通过动物实验发现汗衣台剂量依赖性的保护肝细胞、抑制DHBV DNA复制、减轻肝脂肪变性等作用, 对临床用药具有指导意义, 如患者可以耐受, 可适当增加药物用量。

图 1 急性鸭乙型肝炎各实验组肝组织主要病理改变( $\times 20$ ). A: 模型组, 弥漫性重度脂肪变性(80%左右); B: 汗高组, 中度脂肪变性(50%左右); C: 汗常组, 中度以上脂肪变性(60%左右); D: 拉米组, 中度以上脂肪变性(60%左右).

表 3 实验各组对IL-2分泌的影响 (mean  $\pm$  SD, ng/L)

分组	T0	T7	T14
汗高组	48.04 $\pm$ 4.36	20.48 $\pm$ 8.17 <sup>a</sup>	27.01 $\pm$ 3.89 <sup>a</sup>
汗常组	49.77 $\pm$ 6.40	37.62 $\pm$ 3.72 <sup>a</sup>	25.69 $\pm$ 2.78 <sup>a</sup>
拉米组	48.43 $\pm$ 5.16	36.18 $\pm$ 2.35 <sup>a</sup>	39.47 $\pm$ 7.13
模型组	47.62 $\pm$ 2.34	50.03 $\pm$ 3.03	55.53 $\pm$ 3.05 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs T0. IL: 白介素. T0: 用药前; T7: 用药7 d; T14: 用药14 d.

表 4 实验各组对DHBV DNA复制的影响(病毒拷贝数的对数值) (mean  $\pm$  SD)

分组	T0	T7	T14	P3
汗高组	7.69 $\pm$ 0.06	6.72 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	6.28 $\pm$ 0.32 <sup>ac</sup>	5.37 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>
汗常组	7.84 $\pm$ 0.09	7.72 $\pm$ 0.33	7.45 $\pm$ 0.23	7.15 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
拉米组	8.07 $\pm$ 0.23	6.57 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	6.76 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	5.83 $\pm$ 0.53 <sup>ab</sup>
模型组	7.36 $\pm$ 1.19	7.90 $\pm$ 0.25	7.85 $\pm$ 0.89	7.51 $\pm$ 1.18

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs T0; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs T7; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs T14. DHBV: 鸭乙型肝炎病毒. T0: 用药前; T7: 用药7 d; T14: 用药14 d; P3: 停药3 d.

建立的广西麻DHBV模型, 其病毒血症持续时间较长且较稳定, 无明显的自然转阴现象, 是一种方便经济而又稳定可靠的DHBV感染动物模型。  
本实验采用DHBV感染广西麻鸭1日龄雏鸭建立急性鸭乙型肝炎动物模型, 在感染1 wk

后分别给予不同的干预治疗. 实验结果显示, 在没有任何干预的模型组, DHBV DNA复制量在T0-T7缓慢上升, 在T14-P3之间又稍有下调, 显示出DHBV体内感染的稳定性. 另外, 肝功能ALT在T7-T14期间均明显升高, AST在T14时明显升高, 表明肝细胞变性坏死的情况持续

### 名词解释

免疫性肝损伤: 机体感染乙型肝炎病毒后, 引起以T细胞介导的细胞毒作用为主的免疫应答, 激发自身免疫反应及免疫功能紊乱, 造成肝细胞损伤和破坏, 导致一系列症状和肝功能异常。免疫性肝损伤是急性乙型肝炎主要的发病机制。

加重, 肝组织病理检查提示重度脂肪变性(80%左右)也支持这一观点, 符合急性肝炎病程变化的特点。令人关注的是, 模型组IL-2分泌水平呈上升趋势, 在T14时上升明显具有显著意义。IL-2也叫T淋巴细胞生长因子, 主要由活化的T细胞产生, 其功能主要是促进淋巴细胞生长、增殖、分化, 并诱导和增强细胞毒作用, 参与机体的免疫应答<sup>[24-26]</sup>。IL-2分泌水平的明显升高, 提示模型组在感染DHBV以后, 机体的免疫功能在迅速增强, 以期清除入侵的病毒, 但是, 众所周知, 在急性感染期, 免疫功能过强可能是有害的甚至是致命的, 他导致的结果将是肝细胞广泛的变性和坏死, 所以, 模型组IL-2分泌水平的上升与肝功能的持续加重以及肝组织重度脂肪变性是相符合的。

在病毒感染1 wk后进行干预治疗的汗衣台各组组和拉米夫定组均显示出不同程度地降低肝功能ALT、AST活性的作用。拉米夫定对AST影响不大, 提示在保护和稳定肝细胞膜方面汗衣台优于拉米夫定; 而汗常组早期降酶疗效与汗高组相似, 但在第2周时肝功能ALT、AST水平均出现回升, 提示随着病程的进展, 肝功能持续加重的情况下, 汗常组的剂量已不足以维持其降酶疗效, 可见汗衣台的降酶活性呈剂量依赖型。另外, 无论在临床和体外细胞实验上, 核苷类药物拉米夫定在短期内抑制病毒DNA复制的速度和有效性均毋庸置疑<sup>[27-30]</sup>, 我们的动物实验也表明, 拉米夫定在感染DHBV的急性鸭乙型肝炎模型体内同样可以明显而又迅速地抑制DHBV DNA的复制, 而且停药3 d未见反弹; 汗衣台高剂量组抑制DHBV DNA复制的疗效与拉米夫定组相似, 而汗衣台常用剂量组在T14时对DHBV DNA的抑制作用比较轻微, 停药3 d继续下降, 表现出“作用滞后”现象, 其实无论汗高组还是拉米组停药后的表现均十分相似, 推测此现象可能与肝炎的类型有关, 与慢性肝炎不同, 急性乙型肝炎的血清中病毒载量比较大, 病毒血症一旦被药物抑制以后其重新启动病毒复制可能需要更长的时间; 其次, 在影响IL-2分泌方面, 与模型组IL-2分泌水平不断走高的情况相反, 汗衣台各组与拉米夫定组均表现出不同程度地抑制IL-2分泌的作用, 其中拉米夫定的抑制作用较汗衣台弱许多, 提示汗衣台对免疫应答的干预作用强于拉米夫定;

再者, 急性乙型肝炎的肝损伤主要是由机体免疫应答造成的免疫性损伤, 肝组织病理主要表现为广泛性的肝细胞变性和坏死, 只要在急性期加强护肝、保护肝细胞免受大面积的变性与坏死, 大部分病例可以治愈, 且在病愈后可获得持久免疫力。我们的实验中, 模型组肝细胞脂肪变性80%左右, 汗高组肝细胞脂肪变性50%左右, 汗常组及拉米组相似, 为60%左右, 提示汗衣台与拉米夫定均具有不同程度的减轻肝组织变性坏死的作用, 暗示药物干预在急性肝炎治疗中的必要性。

汗衣台在鸭急性乙型肝炎模型中所表现出来的降低转氨酶、抑制病毒DNA复制、显著降低感染早期参与免疫应答的细胞因子的分泌水平以及减轻肝组织炎症等作用, 可最终达到保护肝细胞、减轻肝组织变性和坏死的目的, 以支持感染动物度过急性感染期, 这正是急性乙型肝炎治疗所必需。然而, 我们的实验也发现, 常用剂量的疗效远不如高剂量, 这将对我们的临床用药具有指导意义。另外, 临床上慢性乙型肝炎的病例数量及危害性均远远超过急性乙型肝炎, 汗衣台对免疫功能普遍低下的慢性乙型肝炎的免疫功能是否也具有调控作用, 这将是我们要研究的内容。

## 4 参考文献

- 1 昆明军区后勤部卫生部. 云南中草药选. 天津: 天津人民印刷厂, 1970: 120-121
- 2 罗献瑞, 赵素云. 中国防已科资料. 广西植物 1986; 6: 49-61
- 3 袁久志, 吴立军. 青龙胆属药用植物研究进展. 中药研究与信息 2005; 7: 14-17
- 4 Ruan CT, Lam SH, Chi TC, Lee SS, Su MJ. Borapetoside C from *Tinospora crispa* improves insulin sensitivity in diabetic mice. *Phytomedicine* 2012; 19: 719-724 [PMID: 22579212 DOI: 10.1016/j.phymed.2012.03.009]
- 5 Lokman FE, Gu HF, Wan Mohamud WN, Yusoff MM, Chia KL, Ostenson CG. Antidiabetic Effect of Oral Borapetol B Compound, Isolated from the Plant *Tinospora crispa*, by Stimulating Insulin Release. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 727602 [PMID: 24319481 DOI: 10.1155/2013/727602]
- 6 Ruan CT, Lam SH, Lee SS, Su MJ. Hypoglycemic action of borapetoside A from the plant *Tinospora crispa* in mice. *Phytomedicine* 2013; 20: 667-675 [PMID: 23523259 DOI: 10.1016/j.phymed.2013.02.009]
- 7 Lam SH, Ruan CT, Hsieh PH, Su MJ, Lee SS. Hypoglycemic diterpenoids from *Tinospora crispa*. *J Nat Prod* 2012; 75: 153-159 [PMID: 22283497 DOI: 10.1021/np200692v]



- 8 Praman S, Mulvany MJ, Allenbach Y, Marston A, Hostettmann K, Siriruga P, Jansakul C. Effects of an n-butanol extract from the stem of *Tinospora crispa* on blood pressure and heart rate in anesthetized rats. *J Ethnopharmacol* 2011; 133: 675-686 [PMID: 21040767 DOI: 10.1016/j.jep.2010.10.052]
- 9 Praman S, Mulvany MJ, Williams DE, Andersen RJ, Jansakul C. Hypotensive and cardio-chronotropic constituents of *Tinospora crispa* and mechanisms of action on the cardiovascular system in anesthetized rats. *J Ethnopharmacol* 2012; 140: 166-178 [PMID: 22265931 DOI: 10.1016/j.jep.2012.01.006]
- 10 Zulkhairi A, Abdah MA, M Kamal NH, Nursakinah I, Moklas MA, Hasnah B, Fazali F, Khairunnur FA, Kamilah KA, Zamree MS, Shahidan MM. Biological Properties of *Tinospora crispa* (Akar Patawali) and Its Antiproliferative Activities on Selected Human Cancer Cell Lines. *Malays J Nutr* 2008; 14: 173-187 [PMID: 22691774]
- 11 廖丹, 段雪琳. 壮药汗衣台体外抗乙型肝炎病毒的疗效. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 171-176
- 12 廖丹, 段雪琳. 壮药汗衣台配伍组方体外抗乙型肝炎病毒的疗效. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 614-618
- 13 谢志春. 荔枝核、莨菪花和罗浮粗叶木抗鸭乙肝病毒及护肝作用的实验性研究. *南宁: 广西医科大学*, 2012: 22
- 14 范巧云, 李朝品, 许礼发, 王克霞. 扇贝多糖抗鸭乙型肝炎病毒作用. *中国人兽共患病学报* 2012; 28: 248-251
- 15 袁伯俊, 余佳红, 陆国才, 黄矛. 浅议药物临床前安全性研究和审评问题. *中国药学会第二届药品技术审评研讨会论文集* 2003; 12: 425-428
- 16 闫杰, 李鑫, 何忠平, 宋淑静, 戴旺苏. 血清乙肝病毒DNA煮沸抽提法的建立和应用. *胃肠病学和肝病学杂志* 2003; 12: 381-382
- 17 朱万孚, 庄辉, 郝娃, 席与萍, 曲平, 席宏丽, 孙新婷, 田庚善, 杜绍财, 陶其敏, 徐凌云. 鸭乙型肝炎动物模型的研究. *北京医科大学学报* 1987; 19: 223-228
- 18 丁华, 林兴, 黄权芳, 张士军, 黄仁彬. 六月青皂苷抗鸭乙型肝炎病毒及保护肝细胞的研究. *中国新药杂志* 2011; 20: 167-171
- 19 苏齐鉴, 邓秋云, 韦金露, 苏洁寒, 谢志春. 荔枝核提取物抗鸭乙型肝炎病毒的作用. *中国新药杂志* 2010; 19: 1434-1438
- 20 黄权芳, 杨辉, 韦刚, 林兴, 张士军, 黄仁彬. 山芝麻抗鸭乙型肝炎病毒作用. *中国实验方剂学杂志* 2011; 17: 179-182
- 21 郭雪峰, 罗秀, 何巧玲, 李秀菊, 明建军, 黄仁彬, 张士军. 玉郎伞多糖抗鸭乙型肝炎病毒作用. *中国实验方剂学杂志* 2014; 20: 175-179
- 22 张士军, 李勇文, 陈兆霓, 黄春喜, 黄仁彬. 广西南宁地区麻鸭乙型肝炎病毒携带状况调查. *中国公共卫生* 2008; 24: 1173
- 23 陈兆霓, 黄仁彬, 罗秀, 何巧玲, 吕鹏, 张士军. 广西麻鸭乙型肝炎病毒感染动物模型的实验研究. *中国临床新医药* 2012; 5: 289-292
- 24 Caramalho I, Nunes-Silva V, Pires AR, Mota C, Pinto AI, Nunes-Cabaço H, Foxall RB, Sousa AE. Human regulatory T-cell development is dictated by Interleukin-2 and -15 expressed in a non-overlapping pattern in the thymus. *J Autoimmun* 2015; 56: 98-110 [PMID: 25481744 DOI: 10.1016/j.jaut.2014.11.002]
- 25 Li Y, Meng FD, Tian X, Sui CG, Liu YP, Jiang YH. Impact of IL-2 and IL-2R SNPs on proliferation and tumor-killing activity of lymphokine-activated killer cells from healthy chinese blood donors. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 7965-7970 [PMID: 25292096]
- 26 Rosalia RA, Arenas-Ramirez N, Bouchaud G, Raeber ME, Boyman O. Use of enhanced interleukin-2 formulations for improved immunotherapy against cancer. *Curr Opin Chem Biol* 2014; 23C: 39-46 [PMID: 25271022 DOI: 10.1016/j.cbpa.2014.09.006]
- 27 王翔燕. 拉米夫定治疗慢性乙型肝炎临床研究. *中国实用医药* 2013; 2: 147-148
- 28 郑链跃, 陶爱萍. 慢性乙型肝炎应用拉米夫定抗病毒治疗的疗效分析. *中国生化药物杂志* 2014; 34: 145-146
- 29 刘方舟, 时宇静, 郭姗姗, 钟菊迎, 金亚宏, 高英杰, 崔晓兰. 升麻提取物SMT体外抗乙肝病毒作用研究. *世界中西医结合杂志* 2014; 9: 534-537
- 30 李丽, 李勇文, 唐爱存. 甲基阿魏酸对HepG2.2.15细胞HBsAg和HBeAg的抑制作用. *中药药理与临床* 2011; 27: 14-17

□ 同行评价  
该研究具有一定的学术价值, 立题新颖, 实验设计合理, 技术路线清晰, 所得结论真实可靠, 对于该药将来进入临床研究提供很好的理论支持和依据。

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

