

苦参碱与氧化苦参碱体外抗乙肝病毒的比较

聂红明, 陈建杰, 高月求, 金树根, 王灵台

■背景资料

苦参碱及氧化苦参碱(苦参素)目前已经在临床上广泛用于治疗病毒性肝炎, 尤其氧化苦参碱被认为具有较好的抗HBV作用。但是其目前疗效仍被质疑, 而且缺乏循证医学的证据。为此, 我们采用体外HepG2.2.15细胞模型对其抗HBV作用进行分析。

聂红明, 陈建杰, 高月求, 金树根, 王灵台, 上海中医药大学附属曙光医院临床肝病中心 上海市 201203

上海市科委基金资助项目, No. 04ZR14132

上海市卫生局资助项目, No. 044087

聂红明, 主治医师, 中西医结合专业博士, 主要从事肝病的中西医结合临床治疗和相关基础研究。

作者贡献分布: 聂红明与陈建杰对此文所作贡献均等; 此课题由聂红明, 陈建杰, 高月求, 金树根及王灵台设计; 研究过程由聂红明与金树根操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由高月求提供; 数据分析由聂红明与金树根完成; 本论文写作由聂红明完成。

通讯作者: 陈建杰, 201203, 上海市浦东新区张衡路528号, 上海中医药大学附属曙光医院临床肝病中心。

beining0630@126.com

电话: 021-51328888-8209

收稿日期: 2007-07-30 修回日期: 2008-12-03

接受日期: 2008-12-08 在线出版日期: 2008-12-28

Comparison of the antiviral effect between matrine and oxymatrine against hepatic B virus *in vitro*

Hong-Ming Nie, Jian-Jie Chen, Yue-Qiu Gao, Shu-Gen Jin, Ling-Tai Wang

Hong-Ming Nie, Jian-Jie Chen, Yue-Qiu Gao, Shu-Gen Jin, Ling-Tai Wang, Department of Liver Diseases, Shuguang Hospital, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai 200021, China

Supported by: the Shanghai Committee of Science and Technology, No. 04ZR14132; and the Project of Shanghai Office of Healthy, No. 044087

Correspondence to: Jian-Jie Chen, Department of Liver Diseases, Shuguang Hospital, Shanghai University of Chinese Medicine, 528 Zhangheng Road, Pudongxin District, Shanghai 200021, China. beining0630@126.com

Received: 2007-07-30 Revised: 2008-12-03

Accepted: 2008-12-08 Published online: 2008-12-28

Abstract

AIM: To evaluate the effect of matrine and oxymatrine on secreting HBsAg, HBeAg and Pre-S1 in HepG2.2.15 cells.

METHODS: HepG2.2.15 cell lines were cultured *in vitro* at different concentrations of matrine and oxymatrine. Nine days later, inhibitory effects of the experimental drugs on HepG2.2.15 cell lines were estimated using MTT and serum HBsAg, HBeAg and Pre-S1 were detected using ELISA.

RESULTS: The inhibitory effects of matrine and oxymatrine on HepG2.2.15 cells under the

concentration of 0.001 mol/L was lower (<25%). When concentration was between 1000 $\mu\text{mol/L}$ and 0.1 $\mu\text{mol/L}$, the inhibition ratios for either matrine or oxymatrine were more than 50% for secreting HBsAg, but lower than 50% for HBeAg. At the concentration of 0.001 mol/L, the inhibitory rates of matrine and oxymatrine on Pre-S1 were 53.58%, and 59.33%, respectively.

CONCLUSION: Both Matrine and Oxymatrine have effect of anti-HBV *in vitro* in some degrees, and no significant difference is noted. Their inhibitory effects on HBsAg and Pre-S1 are superior to Lamivudine.

Key Words: Matrine; Oxymatrine; HepG2.2.15 cells; HBsAg; HBeAg; Pre-S1

Nie HM, Chen JJ, GaoYQ, Jin SG, Wang LT. Comparison of the antiviral effect between matrine and oxymatrine against hepatic B virus *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(36): 4046-4050

摘要

目的: 观察苦参碱与氧化苦参碱对HepG2.2.15细胞分泌HBsAg, HBeAg和Pre-S1的影响, 探讨其体外抗乙型肝炎病毒作用。

方法: 采用HepG2.2.15细胞模型进行体外培养, 给予不同浓度苦参碱与氧化苦参碱, 作用9 d后收集上清液, 用MTT法观察药物对HepG2.2.15细胞的抑制作用, 用ELISA法检测上清液中HBsAg, HBeAg和Pre-S1的分泌。

结果: 苦参碱与氧化苦参碱在浓度为0.001 mol/L以下时对HepG2.2.15的生长抑制作用较小(低于25%)。在浓度为1000 $\mu\text{mol/L}$ 到0.1 $\mu\text{mol/L}$ 之间, 苦参碱和氧化苦参碱对HepG2.2.15细胞分泌HBsAg的抑制率均高于50%, 而对HBeAg的抑制率均低于50%; 浓度为0.001 mol/L时对Pre-S1的抑制率分别为53.58%、59.33%。

结论: 苦参碱与氧化苦参碱均具有一定的抗HBV作用, 两者无显著差别, 且对HBsAg和Pre-S1的抑制效果优于拉米夫定。

关键词: 苦参碱; 氧化苦参碱; HepG2.2.15细胞; 乙

■同行评议者

金瑞, 教授, 首都医科大学附属北京佑安医院消化科

肝病毒s抗原; 乙肝病毒e抗原; 前S1抗原

聂红明, 陈建杰, 高月求, 金树根, 王灵台. 苦参碱与氧化苦参碱体外抗乙肝病毒的比较. 世界华人消化杂志 2008; 16(36): 4046-4050

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/4046.asp>

0 引言

苦参碱(matrine)和氧化苦参碱(oxymatrine)是苦参碱型生物碱(matrine type alkaloid)中的一个生物碱单体, 氧化苦参碱是苦参碱的N-氧化物. 苦参碱型生物碱广泛存在于豆科植物苦参、苦豆子及广豆根中, 是这几种常用中草药的主要有效成分之一. 苦参碱及氧化苦参碱(苦参素)目前已经在临床上广泛使用, 尤其在慢性病毒性肝病的应用中十分普遍, 认为其具有较好的抗HBV作用^[1-3]. 但尚未见有关苦参碱和氧化苦参碱抗HBV作用比较的报道, 为此, 我们采用体外HepG2.2.15细胞模型进行苦参碱和氧化苦参碱体外抗乙型肝炎病毒作用的研究.

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2.2.15细胞是HBV DNA转染人肝癌细胞株HepG2而建立HepG2.2.15细胞系, 可稳定表达病毒蛋白及分泌病毒颗粒等. HepG2.2.15细胞由上海复旦大学病毒与分子生物研究室闻玉梅院士惠赠, 培养基为DMEM, 含100 mL/L胎牛血清, G418(Sigma)200 mg/L, 1×10^5 U/L青霉素. 苦参碱和氧化苦参碱由宁夏丰利源生物化学有限公司提供. 阳性对照药物拉米夫定由上海迪赛诺公司惠赠. 各药物用生理盐水配制成母液, 4℃保存. 使用时用DMEM培养基配制成所需浓度. 乙肝病毒s抗原检测试剂盒(批号为20040929)和乙肝病毒e抗原检测试剂盒(批号为20041124)购自上海实业科华生物技术有限公司; 乙肝病毒前S1抗原检测试剂盒购自上海阿尔法生物技术有限公司(批号为20050104); 胰酶购于上海吉泰科技有限公司; DMEM培养基和胎牛血清购于Gibco-BRL. CO₂培养箱(thermo forma), benchmark plus酶标仪(Bio-RAD).

1.2 方法

1.2.1 指标检测: 采用四氮唑还原法(MTT)检测药物对HepG2.2.15生长的抑制作用; ELISA法测定上清液中HBsAg、HBeAg和Pre-S1含量.

1.2.2 毒性实验: 取HepG2.2.15细胞1瓶, 用胰酶消化后制备成单细胞悬液, 计数后调整细胞浓度至 2×10^7 cell/L, 加入96孔培养板中(每孔100

μL). 置于细胞培养箱中, 37℃、50 mL/L CO₂培养过夜. 取出培养板, 吸去上清后加入含有不同浓度药物的DMEM培养基(含50 mL/L胎牛血清); 放入细胞培养箱, 继续37℃、50 mL/L CO₂培养48 h. 药物浓度分别为: 0.03、0.01、0.001、0.0001、0.00001 mol/L. 药物作用9 d后, 在96孔培养板各孔中加入10 μL的MTT, 重新放入培养箱继续培养4 h. 仔细吸去上清, 每孔加入150 μL DMSO, 轻轻振荡使甲臜溶解, 用酶标仪检测570 nm处的A值.

1.2.3 药物对HepG2.2.15细胞上清分泌HBsAg、HBeAg的抑制实验: 取HepG2.2.15细胞, 用胰酶消化后制备成单细胞悬液. 调节细胞浓度至 2×10^7 cell/L, 加入24孔细胞培养板中(1 mL/孔). 放入细胞培养箱, 37℃、50 mL/L CO₂培养过夜. 取出24孔细胞培养板, 吸出上清后依次加入不同浓度的药物. 药物浓度根据毒性实验的结果, 分别取对HepG2.2.15细胞抑制率低于15%的浓度作为最大无毒浓度, 依次用培养基2倍递减稀释. 放入细胞培养箱, 37℃、50 mL/L CO₂培养. 分别于第3、6、9天更换新鲜培养基, 并将各孔上清液收集至1.5 mL的离心管中冻存备用.

1.2.4 上清HBsAg、HBeAg和Pre-S1的检测: 采用科华ELISA试剂盒进行检测, 操作按照试剂盒的使用说明进行. 最后用酶标仪读取波长450 nm处的A值.

统计学处理 数据采用微机全部输入SPSS数据库, 统计描述用mean±SD表示, 计量资料齐性检验后进行方差分析.

2 结果

2.1 药物对 HepG2.2.15的生长抑制作用 拉米夫定、苦参碱和氧化苦参碱在药物浓度为0.001 mol/L以下时对HepG2.2.15的生长抑制作用较小(表1).

2.2 病毒抗原抑制试验 HepG2.2.15在24孔培养板上生长至单层, 加入不同稀释倍数的药物, 同时设细胞对照组和药物对照组, 培养3、6、9 d分别取上清液测定HBsAg和HBeAg, 并与细胞对照组比较, 计算抑制率、IC₅₀以及TI.

2.2.1 药物对HBsAg的抑制作用: 苦参碱和氧化苦参碱可以有效地抑制细胞分泌HBsAg. 在浓度为1000 μmol/L到0.1 μmol/L之间, 苦参碱和氧化苦参碱对HepG2.2.15细胞分泌HBsAg的抑制率均高于50%, 无剂量依赖性, 其50%抑制率(IC₅₀)为4.9 μmol/L, 其治疗指数(TI = TC₅₀/IC₅₀)

■ 研发前沿

近年来随着分离提取技术的不断发展和进步, 已先后相继分离了多种不同的苦参碱型生物碱单体. 基础及临床研究发现, 苦参碱型生物碱具有抗炎、抗过敏、抗心律失常、平喘、抗癌、升白、保肝、抗病毒等广泛生理活性. 而在目前临床上应用最多及研究较深入的是苦参碱及氧化苦参碱, 尤其在慢性病毒性肝病的应用中十分广泛.

■应用要点

本文对苦参碱及氧化苦参碱体外抗HBV作用进行比较,进一步明确两者的差别,为临床应用提供依据;此外,对于将来进一步开发抗HBV新药提供研究思路,尤其是从苦参碱型生物碱中寻找更好的抗HBV新药提供研究思路。

表 1 药物对 HepG2.2.15的生长抑制作用 (mean ± SD, %)

浓度(mol/L)	苦参碱		氧化苦参碱		拉米夫定	
	A_{570}	抑制率	A_{570}	抑制率	A_{570}	抑制率
0.03	0.120 ± 0.005	98.68	1.219 ± 0.042	51.86	0.661 ± 0.189	71.73
0.01	1.612 ± 0.547	49.26	1.867 ± 0.172	24.44	1.294 ± 0.143	40.89
0.001	2.380 ± 0.287	23.82	2.048 ± 0.143	16.77	1.672 ± 0.339	22.50
0.0001	2.894 ± 0.252	6.79	2.372 ± 0.327	3.07	2.242 ± 0.248	0.00
0.00001	2.991 ± 0.356	3.58	2.440 ± 0.573	0.22	1.831 ± 0.305	14.74
细胞对照	2.454 ± 0.040		3.099 ± 0.178		2.134 ± 0.030	
空白对照	0.083 ± 0.003		0.083 ± 0.003		0.083 ± 0.003	

表 2 药物对HepG2.2.15分泌HBsAg的抑制作用 (mean ± SD, %)

浓度(mol/L)	苦参碱		氧化苦参碱		拉米夫定	
	A_{570}	抑制率	A_{570}	抑制率	A_{570}	抑制率
1000	0.483 ± 0.126	0.00	0.560 ± 0.221	0.00	0.576 ± 0.216	0.00
100	0.330 ± 0.159	31.21	0.290 ± 0.067	39.55	0.405 ± 0.276	15.64
10	0.274 ± 0.166	42.85	0.290 ± 0.077	39.51	0.352 ± 0.051	26.62
1	0.345 ± 0.133	28.07	0.395 ± 0.257	17.70	0.291 ± 0.020	39.25
0.1	0.417 ± 0.199	13.12	0.317 ± 0.104	33.82	0.324 ± 0.131	32.45
0.01	0.673 ± 0.290	0.00	0.682 ± 0.292	0.00	0.502 ± 0.240	0.00
细胞对照	0.493 ± 0.115		0.493 ± 0.115		0.493 ± 0.115	
空白对照	0.26 ± 0.02		0.26 ± 0.02		0.26 ± 0.02	

表 3 对HepG2.2.15分泌的HBeAg的抑制作用 (mean ± SD, %)

浓度(mol/L)	苦参碱		氧化苦参碱		拉米夫定	
	A_{570}	抑制率	A_{570}	抑制率	A_{570}	抑制率
1000	2.152 ± 0.384	0.92	2.193 ± 0.384	0.74	1.810 ± 0.400	23.66
100	2.315 ± 0.233	0.23	2.103 ± 0.517	11.26	2.361 ± 0.581	0.40
10	1.751 ± 1.057	26.14	1.822 ± 0.330	23.12	2.066 ± 0.284	12.85
1	2.139 ± 0.624	0.97	1.783 ± 0.402	24.79	2.275 ± 0.366	0.40
0.1	2.271 ± 0.270	0.41	1.937 ± 0.387	18.28	2.220 ± 0.586	0.63
0.01	2.612 ± 0.058	0.00	2.442 ± 0.363	0.00	2.700 ± 0.152	0.00
细胞对照	2.594 ± 0.220		2.594 ± 0.220		2.594 ± 0.220	
空白对照	0.26 ± 0.02		0.26 ± 0.02		0.26 ± 0.02	

为408.16; 而拉米夫定对HBsAg的抑制率较差, 所选浓度范围内均低于50%(表2)。

2.2.2 药物对HBeAg的抑制作用: 药物作用9 d后, 苦参碱和氧化苦参碱在所选浓度范围内对HepG2.2.15细胞分泌HBeAg的抑制率均低于50%。但明显优于对照药拉米夫定对HepG2.2.15细胞分泌HBeAg的抑制作用(表3)。

2.3 药物对HepG2.2.15细胞上清中Pre-S1的影响 取96孔细胞培养上清中0.001 mol/L浓度的各组药物干预孔和细胞对照孔, 用ELISA法检测在该浓度下用ELISA法检测各组药物对HepG2.2.15

细胞上清中Pre-S1的影响(表4)。

从表中可以看出, 苦参碱和氧化苦参碱在0.001 mol/L浓度时均对HepG2.2.15细胞上清中Pre-S1有较好的抑制效果, 且明显优于拉米夫定对HepG2.2.15细胞上清中Pre-S1的抑制作用。

3 讨论

苦参碱型生物碱是一类具有苦参次碱-15-酮(matridin-15-ketone)基本化学结构相似的化合物, 属于四环的喹啉啶类(quinolizidine), 分子骨架可看作二个喹啉啶环的稠合体。目前已知有

表 4 药物对HepG2.2.15细胞上清中Pre-S1的影响

	A值	抑制率(%)
苦参碱	0.0503 ± 0.010	53.58
氧化苦参碱	0.0463 ± 0.002	59.33
拉米夫定	0.0646 ± 0.011	33.01

近百余种化学成分, 他们广泛存在于豆科植物苦参、苦豆子及广豆根中, 是这几种常用中草药的主要有效成分. 近年来随着分离提取技术的不断发展和进步, 已先后相继分离了不同的苦参碱型生物碱单体. 其中常用的有苦参碱(matrine)、氧化苦参碱(oxymatrine)、槐定碱(sophoridine)、苦豆碱(aloperine)、槐果碱(sophocarpine)、槐胺碱(sophoramine)、槐醇碱(sophoranol)、氧化槐果碱(oxysophocarpine)等. 而在目前临床上应用最多及研究较深入的是苦参碱及氧化苦参碱, 尤其在慢性病毒性肝病的应用中十分广泛. 基础及临床研究发现, 苦参碱型生物碱具有抗炎、抗过敏、抗心律失常、平喘、抗癌、升白、保肝、抗病毒等广泛生理活性^[4-22].

HepG2.2.15细胞是将含有HBV基因组(2个HBV头对尾二聚体, 以尾对尾方向串联)的重组载体质粒转染HepG2细胞, 经G418筛选, 得到的克隆能稳定分泌HBsAg、HBeAg、HBcAg及Dane颗粒, 并可检测到细胞内DNA和RNA等各种中间复制体^[25-26], 还能分泌Pre-S1、Pre-S2^[27-29], 最近还发现在HepG2.2.15细胞株中, 培养细胞的上清和细胞内均发现HBV covalently closed circular(ccc) DNA^[30]. 由于缺乏更好的细胞和动物模型, 能在体外长期培养的肝源性肿瘤细胞株HepG2.2.15细胞是目前用于体外筛选抗HBV药物的主要细胞模型. 我们也采用酶免疫吸附法(ELISA)检测了HepG2.2.15细胞株培养上清中Pre-S1, HBsAg, HBeAg的动态变化, 采用聚合酶链反应法(PCR)检测了HepG2.2.15细胞株培养上清中HBV DNA的动态变化, 发现该模型在体外培养第8天左右是病毒抗原分泌的高峰期^[31].

有研究在比较两种化合物对CCl₄所致肝损伤小鼠血清转氨酶活性的影响时发现, 氧化苦参碱对小鼠急性CCl₄肝损伤降底转氨酶作用强于苦参碱^[23]. 比较苦参碱及氧化苦参碱对A549细胞系增殖能力的影响及其对A549细胞凋亡的诱导效应, 发现苦参碱可抑制A549细胞系增殖并诱导其凋亡; 相同浓度下氧化苦参碱不能抑

制A549细胞系增殖, 10倍剂量也未出现细胞凋亡^[24]. 目前为止, 尚未见这两个基本化学结构相似的化合物抗HBV作用的比较研究相关报道. 我们的研究表明, 苦参碱和氧化苦参碱在体外均具有较好的抑制HepG2.2.15细胞分泌HBsAg, HBeAg的作用, 且优于对照药拉米夫定. 而苦参碱和氧化苦参碱相比较, 两者抗HBV作用无显著差别.

本实验还表明, 苦参碱和氧化苦参碱在浓度为0.001 mol时对HepG2.2.15细胞分泌Pre-S1抗原的抑制率分别为53.58%、59.33%. 我们之前研究发现在HepG2.2.15细胞株培养上清中Pre-S1分泌的变化特征与HepG2.2.15细胞株培养上清中HBsAg和HBeAg类似. 检测HepG2.2.15细胞株培养上清中Pre-S1的变化同样具有较大临床意义^[31]. Pre-S1抗原为HBV的一种外壳蛋白, 他和前S2蛋白(Pre-S2)一起在HBV附着和侵入肝细胞的机制中起重要作用. Pre-S蛋白主要存在于具有感染性的Dane颗粒中, 球形颗粒中亦有少量Pre-S1蛋白. 大量的临床和实验研究表明Pre-S1与HBV和HBV DNA有良好的相关性, 是反映HBV在体内复制的良好标志^[32-33]. 因此, 对Pre-S1抗原的抑制再次表明苦参碱和氧化苦参碱抗乙肝病毒的良好作用.

4 参考文献

- 唐桂莲. 苦参素与干扰素治疗慢性乙型肝炎的成本-效果分析. 中国热带医学 2007; 7: 6-7
- 苏春芝, 王彦奎, 柴娟. 氧化苦参碱注射液治疗慢性重度乙型肝炎的疗效观察. 传染病信息 2006; 19: 208-209
- 胡波, 王亚玲, 朱琳, 李金科, 李芳, 江山. 胸腺肽α1联合苦参素胶囊治疗拉米夫定耐药的慢性乙型肝炎疗效观察. 临床肝胆病杂志 2006; 22: 429-431
- 郭治彬, 付金国, 赵勇, 刘睦胜, 李青. 氧化苦参碱对冠心病患者心律失常及心率变异性的影响. 中国中西医结合杂志 2006; 26: 311-315
- 焦霞, 沈其响, 王利民, 许以平, 张黎明. 氧化苦参碱对哮喘小鼠的抗炎作用及对ICAM-1 mRNA表达的影响. 首都医科大学学报 2006; 27: 28-31
- 武永刚, 倪武, 缪晓辉, 蔡雄, 赵克开. 泛昔洛韦等3种药物抗乙型肝炎病毒的体外实验研究. 武警医学 2004; 15: 191-195
- 李常青, 刘妮, 李小翠, 程怡, 张奉学, 张冬青, 朱宇同. 苦参碱脂质体抗乙型肝炎病毒的体外实验研究. 热带医学杂志 2003; 25: 19-21
- 徐文胜, 王国俊, 缪晓辉, 蔡雄. 氧化苦参碱对HepG2.2.15细胞中乙型肝炎病毒DNA表达量的影响. 第二军医大学学报 2002; 23: 72-73
- 李继强, 陈紫恒, 曾民德, 陆伦根, 邱德凯, 茅益民, 范竹萍, 华静. 氧化苦参碱抗乙型肝炎病毒的体外实验研究. 中华消化杂志 2001; 21: 34-36
- 于晓峰, 邹健, 冉志华. 氧化苦参碱对胃癌细胞杀伤作用的机制. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1719-1724
- 陆丽华, 冉志华. 氧化苦参碱对人结肠癌细胞P21, P27, Cyclin E1及CDK2表达的影响. 世界华人消化杂

■同行评价

本文是一篇比较有研究价值的论文, 从研究思绪, 材料与方法, 研究结果都比较科学合理, 为进一步研究奠定基础.

- 志 2007; 15: 1353-1357
- 12 李兆申, 许永春, 屠振兴, 施新岗. 急性坏死性胰腺炎早期胰腺组织趋化因子基因的表达及氧化苦参碱的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 979-983
- 13 曾维政, 吴晓玲, 蒋明德. 氧化苦参碱对肝纤维化大鼠 Smad基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 984-987
- 14 李常青, 刘丽丽, 莫传伟, 黄玲. 苦参碱对Con A性肝损伤小鼠IFN释放及肝组织病理改变的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 640-643
- 15 陆伦根, 曾民德, 茅益民, 李继强, 邱德凯, 沈朝晖, 宋育林, 曹爱平. 氧化苦参碱对HBV转基因鼠HBV抗原表达的抑制作用. 世界华人消化杂志 2004; 12: 95-98
- 16 聂红明, 王灵台, 陈建杰, 汪蓉, 金树根, 高月求. 槐果碱体外对HepG2.2.15细胞分泌HBsAg, HbeA的影响. 辽宁中医杂志 2006; 49: 1478-1479
- 17 马玲娣, 张彦, 何於娟, 刘小珊, 康格非, 蒋纪恺. 苦参碱对小鼠H22肝癌细胞凋亡作用的实验研究. 肿瘤 2007; 27: 602-606
- 18 聂红明, 陈建杰, 高月求, 金树根, 王灵台. 槐定碱体外抗乙型肝炎病毒的实验研究. 北京中医 2007; 26: 678-680
- 19 贾永, 王建华, 彭彦辉, 郝玉宾. 氧化苦参碱对结直肠癌病人放疗后升白细胞作用的研究. 中国临床医药研究杂志 2007; 13: 22-23
- 20 赵营, 张玉林, 徐林刚, 陈西敬, 俞巧玲. 甘草酸、甘草次酸及苦参碱等对实验性胆汁淤积大鼠作用的比较. 中国药科大学学报 2007; 52: 256-260
- 21 杨晓明, 徐华, 王恬, 杨晓玲, 李桂忠, 曹军. 氧化苦参碱对心肌损伤大鼠心功能保护作用的研究. 中国医药导刊 2007; 9: 146-149
- 22 商蕾, 王玲, 孙宏丽, 初文峰, 杨宝峰. 氧化苦参碱对大鼠急性心肌缺血时心肌细胞凋亡的影响. 中国药理学杂志 2007; 55: 501-504
- 23 张明华, 李灵芝, 陈虹, 郭建新, 杨林静. 苦参碱和氧化苦参碱对CCl4肝损伤小鼠转氨酶的影响. 武警医学院学报 2002; 8: 74-75
- 24 王源, 司维柯, 李鹏, 姚婕. 苦参碱及氧化苦参碱抑制A549细胞增殖及诱导细胞凋亡的比较研究. 第三军医大学学报 2004; 26: 778-780
- 25 Sells MA, Chen ML, Acs G. Production of hepatitis B virus particles in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 1005-1009
- 26 Tsurimoto T, Fujiyama A, Matsubara K. Stable expression and replication of hepatitis B virus genome in an integrated state in a human hepatoma cell line transfected with the cloned viral DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 444-448
- 27 Gerber MA, Sells MA, Chen ML, Thung SN, Tabibzadeh SS, Hood A, Acs G. Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural studies of the production of hepatitis B virus in vitro. *Lab Invest* 1988; 59: 173-180
- 28 Lampertico P, Malter JS, Gerber MA. Development and application of an in vitro model for screening anti-hepatitis B virus therapeutics. *Hepatology* 1991; 13: 422-426
- 29 Kruining J, Heijtkink RA, Schalm SW. Antiviral agents in hepatitis B virus transfected cell lines: inhibitory and cytotoxic effect related to time of treatment. *J Hepatol* 1995; 22: 263-267
- 30 Liu MC, Yu M, Zhang NL, Gong WB, Wang Y, Piao WH, Wang QH, Wang GQ. Dynamic analysis of hepatitis B virus DNA and its antigens in 2.2.15 cells. *J Viral Hepat* 2004; 11: 124-129
- 31 聂红明, 汪蓉, 陈建杰, 高月求, 金树根, 王灵台. HepG2. 2. 15细胞分泌前S1、病毒抗原和乙型肝炎病毒DNA的动态变化. 中华传染病杂志 2007; 25: 274-275
- 32 李琴, 孙桂珍, 魏玉香, 闵福媛, 丛玉隆, 欧晓娟, 王宝恩. 前S1蛋白与病毒DNA和核心抗原对乙型肝炎病毒复制诊断的对比. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 11-13
- 33 檀玉芬, 辛咏梅, 佟宣, 陈洁. 乙肝患者血清前S1抗原与HBV DNA的检测及其临床意义. 细胞与分子免疫学杂志 2004; 20: 333

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志作者贡献及同行评议公开政策

本刊讯 本刊实行作者贡献及同行评议公开政策, 具体格式如: (1)作者贡献分布: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川, 庞丽娟, 陈玲, 杨兰, 张金芳, 齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲, 杨兰, 张金芳, 蒋金芳, 杨磊, 李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川, 杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川, 庞丽娟及李洪安完成. (2)同行评议者: 房静远教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所; 韩新巍教授, 郑州大学第一附属医院放射科; 匡安仁教授, 四川大学华西医院核医学科. (常务副总编辑: 张海宁 2008-12-28)