

· 药物研究 ·

# 金叶败毒治疗孕早期豚鼠巨细胞病毒感染的研究\*

陈素华,熊锦文,邢 玮,赵 婕,刘海智,王昕荣

(华中科技大学同济医学院附属同济医院妇产科,武汉 430030)

**[摘要]** 目的:探讨清热解毒中药金叶败毒抗孕早期豚鼠巨细胞病毒(guinea pig cytomegalovirus, GPCMV)感染的效果及孕期用药的安全性。方法:①随机选择妊娠早期雌豚鼠 75 只分成 3 组,每组 25 只。空白对照组:不接种病毒。阳性对照组:每只腹腔接种 GPCMV 悬液 1 mL( $10^7$  TCID<sub>50</sub>)。治疗组:按阳性对照组接种病毒,同时灌胃给予中药金叶败毒(tid,连用 14 d)。20 d 后处死豚鼠,采集血液及各脏器组织,检测感染情况。②随机选取受孕后第 1~18 天(小鼠器官发生期)的雌鼠 90 只,随机分成 3 组,每组 30 只。空白对照组不给药。阳性对照组给予致畸阳性对照药维生素 A, 100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,每日分 3 次灌胃给药。治疗组根据小鼠灌胃最大容积给予金叶败毒,将 0.5 g 药溶于 37℃ 温开水 0.5 mL, tid,连用 18 d。追踪母鼠一般情况及胎仔生长发育状况。结果:①阳性对照组和治疗组的血液 GPCMV DNA 阳性率分别为 100.0% (25/25) 和 44.0% (11/25), 差异有极显著性( $\chi^2 = 3.94, P < 0.01$ ), 阳性对照组出现被毛耸立等感染征象 96.0% (24/25), 死亡 4.0% (1/25), 治疗组无任何感染征象。②小鼠器官发生期给药不增加胎仔生长发育异常的风险。结论:中药金叶败毒具有抗孕早期 GPCMV 感染的效果, 孕期用药比较安全。

**[关键词]** 金叶败毒;巨细胞病毒,豚鼠;妊娠

**[中图分类号]** R285.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2004)01-0001-03

## A Study on Traditional Chinese Medicine *Jinyebaidu* for Treating Anti-early Pregnancy Infection with Guinea Pig Cytomegalovirus

CHEN Su-hua, XIONG Jin-wen, XING Wei, ZHAO Jie, LIU Hai-zhi, WANG Xin-rong (Department of Obstetrics & Gynecology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effect of traditional Chinese medicine *jinyebaidu* on early pregnant guinea pigs infected with guinea pig cytomegalovirus (GPCMV) and its safety in pregnancy. **Methods:** ①A total of 75 pregnant guinea pigs in the first trimester were randomly divided into three groups: blank control group were treated with nothing special; positive control group were only inoculated with 1ml suspension of GPCMV intraperitoneally; treatment group were given *jinyebaidu* through stomach perfusing after being inoculated. The guinea pigs were killed after 20 days and the GPCMV infection rate was examined in the blood and organs ②90 pregnant mice were randomly divided into three groups: blank control group were given nothing; positive control group were treated with vitamin A and treatment group accepted *jinyebaidu*. The effect on pregnant mice and the development of their offsprings were followed up. **Results:** ①the GPCMV DNA positive rate of blood in the treatment group was lower than that of positive group ( $\chi^2 = 39.4, P < 0.01$ ) significantly. The rates of viremia manifestation and death were 96.0% (24/25) and 4.0% (1/25) respectively in the positive group, but no infection sign was seen in the treatment group. ②*Jinyebaidu* has no effect on the offsprings. **Conclusion:** Traditional Chinese medicine *jinyebaidu* markedly reduces the GPCMV maternal infection rate. The medicine is safe when used in pregnant mice.

**KEY WORDS** *Jinyebaidu*; Guinea pig cytomegalovirus (GPCMV); Pregnancy

自 1956 年从组织培养中成功分离出人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)以来,资料显示,孕期活动性感染易发生宫内传播,并对子代生长发育造成严重影响<sup>[1]</sup>。邢 玮等<sup>[2]</sup>曾在体外实验中发现,清热解毒中药金叶败毒对 HCMV 感染所导致的细胞病变具有显著抑制效果。为进一步探讨该药治疗孕期感染

任医师,硕士,主要从事围生医学与优生研究工作。

的效果以及在孕期使用的安全性,笔者在豚鼠巨细胞病毒(guinea pig cytomegalovirus, GPCMV)感染实验动物模型上,研究金叶败毒对孕早期 GPCMV 感染的影响,为临床研究提供理论依据。

### 1 材料与方法

**1.1 细胞与病毒** 豚鼠胚肺细胞株和 GPCMV 标准株 22122 均购自美国模式培养物保藏所(American type culture collection, ATCC),在湖北省预防医学科学院病毒研究所按常规方法培养传代,病毒滴度为每 0.

**[收稿日期]** 2003-07-04 **[修回日期]** 2003-07-23

**[基金项目]** \* 国家自然科学基金资助项目(基金编号: 39970769)

**[作者简介]** 陈素华(1961 -),女,山东宁津人,教授,主

1 mL 10<sup>6</sup> ~ 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>。

**1.2 药物** ①金叶败毒,曾用名抗炎6号、热毒清,含大青叶、金银花、蒲公英、鱼腥草等主要成分,流浸膏制剂由华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部提供,含生药 3 g · mL<sup>-1</sup>。②维生素 A,南京市鱼肝油厂生产,含维生素 A 5 000 U · g<sup>-1</sup>。

**1.3 动物及分组** Hartley 雌雄豚鼠,月龄 >6 个月,体重(675 ± 25) g,在湖北省医学实验动物中心购买并在此完成实验研究。豚鼠心脏穿刺取血后,使用套式聚合酶链反应(nest-polymerase chain reaction, N-PCR)检测血液中 GPCMV DNA,结果阴性的豚鼠列为研究对象。将筛选出来的雌雄豚鼠按 4: 1 比例同笼,次日早晨取出雌豚鼠,取阴道分泌物涂片检查有无精子,从阴道分泌物涂片中查到精子之日定为妊娠第 0 天。随机选择妊娠早期(孕龄 1 ~ 20 d)雌豚鼠分 3 组:①空白对照组:25 只,不接种病毒。②阳性对照组:25 只,每只腹腔接种 GPCMV 悬液 1 mL(10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>)。③治疗组: 25 只,按阳性对照组所述方法接种病毒,同时灌胃给予中药金叶败毒(tid,连用 14 d,药物剂量按人与豚鼠体重剂量折算系数进行换算<sup>[3]</sup>,并根据豚鼠体重变化逐日调整药物剂量)。比较各组妊娠豚鼠的神态、体重、被毛、饮食、睡眠等变化情况,并于孕中期(孕龄 21 ~ 40 d)处死母豚鼠,采集母豚鼠的血液以及唾液腺、心脏、肝脏、胸腺等脏器组织标本,检测病毒感染情况及组织学变化。

昆明种小鼠,约 2 个月龄,体重(22 ± 2)g,在华中科技大学同济医学院实验动物中心购买并在此完成实验。按 2: 1 或 1: 1 比例雌雄同笼,妊娠检测方法同豚鼠。随机选取受孕后第 1 ~ 18 天(小鼠器官发生期)的雌鼠随机分成 3 组,每组 30 只:①空白对照组不给药,②阳性对照组给予致畸阳性对照药维生素 A, 100 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>,每日分 3 次灌胃给药。③治疗组根据小鼠灌胃最大容积给予金叶败毒,将 0.5 g 药溶于 37℃ 温开水 0.5 mL, tid,连用 18 d。观察各组孕鼠体重、饮食、尿液、粪便及毛发等情况,追踪各组胎仔生长发育状况及乳鼠骨髓染色体(每组各取 10 只孕鼠的 3 周龄乳鼠骨髓制片, G 带分析<sup>[4]</sup>),进行生殖毒性试验,观察金叶败毒对母体及子代生长发育有无不良影响。

**1.4 主要检测方法与试剂来源** ①N-PCR:检测豚鼠血液和脏器组织标本中 GPCMV DNA。引物序列见参考文献[5,6],由上海生物工程公司合成,其余试剂均来源于上海第二医科大学。实验设置阴性对照(HCMV-AD<sub>169</sub>、HSV- I 及 HSV- II 毒株)、空白对照和

阳性对照(GPCMV 培养上清液)。2% 琼脂糖凝胶电泳判断结果。实验操作详见参考文献[7]。②组织学检查:组织块经 PBS 液冲洗、10% 甲醛缓冲液固定过夜,常规石蜡包埋、切片、染色、镜检。

**1.5 母豚鼠感染诊断标准** 血液或任何脏器组织标本 GPCMV DNA 阳性。

**1.6 统计学方法** 应用 SAS 统计分析软件包进行  $\chi^2$  检验和精确概率法检验。

**2 结果**

**2.1 母豚鼠一般情况** 阳性对照组中,24 只在接种病毒后第 2 ~ 7 天出现病毒血症表现,包括被毛耸立、少食多睡、体重下降、躁动、嗜咬笼架等,其中 1 只于接种病毒后第 10 天死亡,组织学检查发现肺部间质性炎性变。空白对照组和治疗组均未出现异常表现。提示中药可有效缓解病毒接种所导致的中毒表现。

**2.2 母豚鼠病毒血症情况** 阳性对照组和治疗组的血液 GPCMV DNA 阳性率分别为 100.0% (25/25) 和 44.0% (11/25),差异有极显著性( $\chi^2 = 39.4, P < 0.01$ ),阳性对照组出现被毛耸立等感染征象 96.0% (24/25),死亡 4.0% (1/25);治疗组无任何感染征象。提示中药可减少病毒接种后的病毒血症。

**2.3 病毒在母豚鼠各脏器的分布情况** 每组 25 只母豚鼠,每只采集 9 个脏器标本,每组共采集 225 个脏器标本检测 GPCMV DNA。其中,阳性对照组 110 个脏器阳性,治疗组 33 个脏器阳性,两组差异有极显著性( $\chi^2 = 60.8, P < 0.01$ )。进一步分析发现,两组唾液腺、胸腺、脑组织、子宫和肺组织的阳性数均差异有极显著性( $\chi^2$  分别为 20.8, 17.0, 20.1, 14.3, 6.9, 均  $P < 0.01$ ),提示中药可减少孕早期豚鼠脏器感染。GPCMV DNA 检测结果详见表 1。

**2.4 生殖毒性试验结果** 3 组孕鼠的体重、饮食、睡眠、活动等情况无明显改变。胎仔发育情况详见表 2。其中,仅阳性对照组出现 8 只畸形胎仔,与空白对照组

表 1 两组母豚鼠 GPCMV 阳性脏器组织数量比较 个

脏器	阳性对照组	治疗组	脏器	阳性对照组	治疗组
唾液腺	19	3	心脏	13	5
胸腺	16	2	肾脏	7	12
脑	16	1	脾	5	1
子宫	16	3	肝脏	4	1
肺	14	5			

表 2 3 组小鼠生殖毒性参数比较  $\bar{x} \pm s$

组别	孕鼠 /只	吸收胎数	死胎数	活胎数	平均活胎 体重/g
治疗组	30	11 <sup>*1</sup>	0 <sup>*2</sup>	312 <sup>*3</sup>	1.71 ± 0.12 <sup>*4</sup>

阳性对照组	30	77 <sup>*5</sup>	27 <sup>*6</sup>	208 <sup>*7</sup>	1.52 ± 0.20 <sup>*8</sup>
空白对照组	30	13	3	316	1.74 ± 0.23

注:与空白对照组比较,<sup>\*1,\*2,\*3,\*4</sup>均  $P > 0.05$ ; <sup>\*5</sup> $\chi^2 = 60.16$ ; <sup>\*6</sup> $\chi^2 = 29.2$ ; <sup>\*7</sup> $\chi^2 = 95.9$ ; <sup>\*8</sup> $t = 2.7$ ; <sup>\*5,\*6,\*7,\*8</sup>均  $P < 0.01$

比较,差异有极显著性( $P < 0.01$ ),治疗组与空白对照组之间差异无显著性( $P > 0.05$ )。3组乳鼠的染色体结构及数目均无异常。金叶败毒的生殖毒性试验结果为阴性,提示该药在孕期使用比较安全。

### 3 讨论

①GPCMV 感染与 HCMV 感染具有极大的相似性,因此,GPCMV 感染动物模型是研究 HCMV 感染的良好工具<sup>[8]</sup>。笔者随机选择无感染史的性成熟期豚鼠,雌雄同笼受孕后于早期妊娠阶段腹腔接种 GPCMV,25 只动物接种病毒后均出现病毒血症,96.0% 出现被毛耸立等感染征象,4.0% 死亡并出现脏器非特异性炎性变,显示 GPCMV 感染模型已成功建立。从病毒在各脏器组织分布看,唾液腺最高,胸腺、脑和子宫位居第二,证实病毒易侵犯神经系统和子宫,造成神经系统损伤和宫内传播,这与 HCMV 感染类似。研究结果显示,在接种病毒的同时灌胃给予中药金叶败毒,病毒血症发生率由 100.0% 降至 44.0%,无任何动物出现感染症状,脏器感染率尤其是唾液腺、胸腺、脑、子宫和肺组织感染率下降,提示金叶败毒具有抗妊娠早期 GPCMV 感染的价值。②寻找安全有效的药物治疗孕期 HCMV 感染,是减少宫内感染、改善出生质量的重要措施。生殖毒性试验结果显示,在小鼠器官发生期,给予致畸阳性对照药维生素 A,可诱导胎仔畸

形,并使吸收胎数和死胎数增加,活胎数和平均活胎体重下降;给予金叶败毒,未出现胎仔畸形,不影响吸收胎、死胎和活胎的数量以及平均活胎体重。金叶败毒生殖毒性试验结果阴性,提示该药在孕期使用比较安全,有望成为临床治疗孕期 HCMV 活动性感染的药物。

#### [参考文献]

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 第5版. 北京:人民卫生出版社, 2000. 196-197.
- [2] 邢玮, 闻良珍, 董继华, 等. 热毒清抗人巨细胞病毒作用的临床及实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(4): 215-217.
- [3] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京:人民军医出版社, 2000. 335-336.
- [4] 王宗仁, 贾凤兰, 吴鹤龄. 动物遗传学实验方法[M]. 北京:北京大学出版社, 1990. 96-100.
- [5] Bratcher D F, Bourne N, Bravo F J, et al. Effect of passive antibody on congenital cytomegalovirus infection in guinea pigs[J]. *J Infect Dis*, 1995, 172: 944-950.
- [6] Harrison C J, Britt W J, Chapman N M, et al. Reduced congenital cytomegalovirus infection after maternal immunization with a guinea pig CMV glycoprotein before gestational primary CMV infection in the guinea pig model[J]. *J Infect Dis*, 1995, 172: 1212-1220.
- [7] 陈素华, 熊锦文, 邢玮. 中药改善孕期巨细胞病毒感染对子代生长发育影响的动物实验研究[J]. 广州医学院学报, 2003, 31(1): 4-7.
- [8] Bia F J, Griffith B P, Fong C K Y, et al. Cytomegalovirus infection in the guinea pig: experimental models for human disease[J]. *Rev Infect Dis*, 1983, 5: 177.

## 雷尼替丁致变态反应 1 例

何 迅

(四川省人民医院皮肤科, 成都 610072)

[关键词] 雷尼替丁; 变态反应

[中图分类号] R975

[文献标识码] B

[文章编号] 1004-0781(2004)01-0003-01

患者,女,35岁。因食虾后感胃脘部不适,口服雷尼替丁胶囊(重庆科瑞制药有限责任公司生产,批号:000261)0.15g,约1h后开始出现心慌、恶心、胃痛、泻下黄色水样便2次、全身瘙痒,急来我院急诊科诊治。体检:体温36.8℃,心率67次·min<sup>-1</sup>,呼吸率20次·min<sup>-1</sup>,血压107/45mmHg(1mmHg=0.133kPa),神清,面色苍白,双耳潮红,双球结膜充血,四肢末端青紫肿胀湿冷,心肺腹未查见异常。查血常规示:WBC 8.8 × 10<sup>9</sup> · L<sup>-1</sup>, N

[作者简介] 何迅(1972-),女,四川宜宾人,住院医师,硕士,主要从事皮肤病临床与基础研究工作。

0.52, L 0.36。当时诊断为急性荨麻疹(腹型)。立即给予苯海拉明20mg, im, 约15min后以上症状开始缓解,以后依次静脉滴注琥珀酸氢化可的松200mg、10%葡萄糖酸钙10mL、维生素C2g、雷尼替丁0.15g(徐州莱恩药业有限公司生产,批号:400801)。在静脉滴注雷尼替丁约5min时,又开始出现心慌、恶心、胃痛,泻下黄色水样便1次,全身瘙痒,立即停用雷尼替丁,换以5%葡萄糖注射液250mL维持,并请消化内科医师会

[收稿日期] 2003-05-08

[修回日期] 2003-07-20