

·论著·

# 柴胡 黄芩 炙甘草对小鼠 CVB3 心肌炎治疗作用的研究

卫文峰,张国成,许东亮,李小青

(第四军医大学西京医院儿科,陕西 西安 710032)

[摘要] 目的 探讨单剂柴胡、黄芩、炙甘草对柯萨奇病毒 B3(CVB3)感染的病毒性心肌炎小鼠的治疗作用。方法 用 CVB3 感染 Balb/C 小鼠造成病毒性心肌炎模型,分别用生理盐水、柴胡、黄芩、炙甘草灌胃治疗,观察病毒感染后不同时间点的心肌组织病理变化。结果 柴胡组小鼠在感染后第 5、7、10 天心肌病理积分为  $1.33 \pm 0.82$ ,  $1.60 \pm 0.63$  和  $1.87 \pm 0.74$ ,明显低于对照组 ( $2.22 \pm 1.37$ ,  $3.27 \pm 0.96$ ,  $2.60 \pm 1.06$ ) ( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。炙甘草组小鼠在感染后第 5、7 天心肌病理积分为  $1.26 \pm 0.88$  和  $1.80 \pm 0.68$ ,明显低于相应对照组 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。黄芩组小鼠在感染第 14、21 天后心肌病理积分 ( $1.53 \pm 0.74$ ,  $0.80 \pm 0.56$ ) 与对照组 ( $2.33 \pm 0.98$ ,  $1.40 \pm 0.83$ ) 比较差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。结论 单剂柴胡、黄芩、炙甘草在不同的时间点对心肌细胞起保护作用。

[中国当代儿科杂志,2003,5(3):223-225]

[关键词] 柴胡;黄芩;炙甘草;柯萨奇病毒 B3;心肌炎;小鼠

[中图分类号] R542.2<sup>+</sup>1 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2003)

## Therapeutic Effects of Bupleurum Root, Scutellaria Root and Baked Licorice on Viral Myocarditis Caused by Coxsackievirus B3 in Mice

Wei-Feng WEI, Guo-Cheng ZHANG, Dong-Liang XU, Xiao-Qing LI. Department of Pediatrics, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China (Email: xjjerke@FMMU.edu.cn)

**Abstract:** **Objective** To study the effects of bupleurum root, scutellaria root and baked licorice respectively, on viral myocarditis caused by coxsackievirus B3 (CVB3) in mice. **Methods** The viral myocarditis model was established by injecting CVB3 in 100 Balb/C mice. Normal saline (served as the control group), bupleurum root, scutellaria root and baked licorice were administrated by intragastric route in 25 mice respectively, with the dosage of 0.5 ml, once daily for 2 weeks. The pathologic changes in myocardium of mice were evaluated with the routine histopathological method. **Results** The pathology scores of myocardium on the 5th, 7th and 10th days after treatment in the bupleurum root group ( $1.33 \pm 0.82$ ,  $1.60 \pm 0.63$  and  $1.87 \pm 0.74$ , respectively) were significantly lower than those of the controls ( $2.22 \pm 1.37$ ,  $3.27 \pm 0.96$  and  $2.60 \pm 1.06$ , respectively) ( $P < 0.05$  or  $0.01$ ). On the 5th and 7th days after the treatment with baked licorice, there were significant differences in the pathology scores of myocardium between the baked licorice group ( $1.26 \pm 0.88$  and  $1.80 \pm 0.68$ ) and the control group ( $P < 0.05$  or  $0.01$ ). Scutellaria root took effects later. The pathology scores of myocardium in the scutellaria root group significantly decreased on day 14 and day 21 after treatment compared with those of the control group ( $1.53 \pm 0.74$  vs  $2.33 \pm 0.98$  and  $0.80 \pm 0.56$  vs  $1.40 \pm 0.83$ , respectively;  $P < 0.05$ ). **Conclusions** Bupleurum root, scutellaria and baked licorice may have protective effects on the myocardium at different time after medication. [Chin J Contemp Pediatr, 2003, 5(3): 223-225]

**Key words:** Bupleurum root; Scutellaria root; Baked licorice; Coxsackievirus B3; Myocarditis; Mouse

小柴胡汤对柯萨奇病毒 B3(Coxsackievirus B3, VMC)的有效治疗作用已被证实。方中柴胡、黄芩、CVB3)引起小鼠病毒性心肌炎(viral myocarditis, 甘草均有抗菌、抗病毒、抗炎作用,它们单独是否对

[收稿日期] 2002-05-24; [修回日期] 2002-11-02

[作者简介] 卫文峰(1972-),女,硕士研究生,主治医师。主攻方向:小儿心肌疾病的诊断和治疗。现在陕西省咸阳市第二人民医院儿科,邮编:712000。

[通讯作者] 张国成,陕西省西安市第四军医大学西京医院儿科,邮编:710032。

CVB3引起的VMC有作用,尚未见报道。为进一步探讨小柴胡汤的药理作用基础,寻找其治疗心肌炎的化学物质,本实验选用柴胡、黄芩、炙甘草几味中药单剂分别对柯萨奇病毒B3(CVB3)感染的心肌炎小鼠模型进行了治疗研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 Balb/C 雄性小鼠,6~8周,16~18g,二级动物,由解放军第四军医大学实验动物中心提供。将100只小鼠随机分成4组,即对照组、柴胡组、黄芩组及炙甘草组,每组25只。

1.1.2 病毒 柯萨奇病毒B3(CVB3) Nancy株(来源于本科室保存的病毒株)。在Hep-2细胞上连传3代,微量滴定法测定TCD<sub>50</sub>为10<sup>4</sup>。

1.1.3 药物 柴胡12g,黄芩9g,炙甘草6g,分别用蒸馏水煎煮30min,过滤,浓缩,0.1kPa高压灭菌,4℃保存备用。

### 1.2 方法

1.2.1 动物的感染与给药 Balb/C小鼠经腹腔接种含100TCD<sub>50</sub>的CVB3液0.1ml,30min后,灌胃给药。按20g小鼠与70kg成人表面积换算系数0.0026换算,每只20g小鼠所用剂量为柴胡0.06g、黄芩0.05g、炙甘草0.01g。每只每次0.5ml,分别含柴胡0.06g,黄芩0.05g,炙甘草0.01g,连续给药两周。对照组小鼠腹腔接种相同剂量的病毒,每只每日给0.5ml生理盐水灌胃,连续两周。

1.2.2 动物处死及标本的收集 分别于病毒感染后3,5,7,10,14,21d断颈处死存活小鼠,每组3只,获取心脏,沿心尖、心室壁轴线纵向剖开,一半置于4%多聚甲醛固定,行常规病理切片,HE染色。另一半心脏作病毒分离。第7天各组多处死小鼠

1只,获取心脏,切成1mm<sup>3</sup>小块,4%戊二醛固定,切片用电镜(日本JEOL公司,型号JEM-100SX)观察。

1.2.3 组织病理学检查 采用Rezkalla半定量分析法<sup>[1]</sup>光镜下计量心肌炎症、坏死面积,即每张切片取5个高倍视野,计算每个视野中炎性细胞浸润及坏死区域面积与整个视野的面积之比,无病变计0分,<25%计1分,25%~50%计2分,50%~75%计3分,>75%计4分。

### 1.3 统计方法

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用t检验进行组间比较。

## 2 结果

### 2.1 一般状况

病毒攻击后第3天,各组小鼠活动可,食纳佳,皮毛光滑,反应灵敏。第7~10天,食纳减少,嗜睡,活动少,反应差,皮毛尚光滑,无肢体瘫痪。第14天,各组小鼠食纳较前增加,活动增多,但皮毛粗糙。第21天,活动、食纳恢复如常,皮毛不光滑,有脱毛现象。存活率为柴胡组92%(23/25),黄芩组88%(22/25),炙甘草组92%(23/25),对照组80%(20/25)。

### 2.2 心肌病理改变

病理检查显示各组小鼠从第3天开始有心肌细胞水肿、炎细胞浸润等病理改变。第7~10天最重,并伴有点片状坏死。第14天,部分小鼠有弥漫性炎症、坏死出现。第21天炎性细胞浸润及心肌坏死逐渐减少。电镜下各组小鼠心肌细胞可见线粒体肿胀、嵴肿胀、消失,肌浆网扩张,肌丝溶解、断裂。柴胡组第5~10天心肌病变比对照组显著减轻( $P < 0.05$ 或 $0.01$ ),第7天尤其显著。炙甘草组第5,7天病变轻于对照组( $P < 0.05$ 或 $0.01$ )。黄芩组在第14,21天心肌病变轻于对照组( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 不同药物治疗CVB3感染后小鼠VMC在不同时期心肌病理积分  
Table 1 Pathology scores of myocardium of mice with CVB<sub>3</sub> infection after

组别	treatment with different medicines (n=3, $\bar{x} \pm s$ )					
	3 d	5 d	7 d	10 d	14 d	21 d
对照组	0.20 ±0.41	2.22 ±1.37	3.27 ±0.96	2.60 ±1.06	2.33 ±0.98	1.40 ±0.83
柴胡组	0.40 ±0.51	1.33 ±0.82 <sup>a</sup>	1.60 ±0.63 <sup>b</sup>	1.87 ±0.74 <sup>a</sup>	1.67 ±1.05	1.00 ±0.76
黄芩组	0.47 ±0.52	1.60 ±0.91	2.87 ±0.74	2.27 ±0.59	1.53 ±0.74 <sup>a</sup>	0.80 ±0.56 <sup>a</sup>
炙甘草组	0.53 ±0.52	1.26 ±0.88 <sup>a</sup>	1.80 ±0.68 <sup>b</sup>	2.20 ±1.08	2.27 ±0.70	1.60 ±0.74

注:a与对照组比较  $P < 0.05$ ;b与对照组比较  $P < 0.01$

### 3 讨论

柯萨奇病毒B组是一组单链RNA病毒,小肠道病毒属,是小儿VMC的主要病原体之一。由于本病发病机制尚不十分清楚,亦无特效的治疗药物,因此开发中医药治疗,具有十分重要的意义。小柴胡汤治疗VMC的疗效,国内外已有多位学者研究证实。雨谷荣等报道<sup>[2]</sup>,小柴胡汤对正常小鼠T细胞具有免疫调节作用。王西栋等<sup>[3]</sup>用Balb/C小鼠体内心肌炎模型证实,小柴胡汤具有抗炎作用,病毒感染5~21d,治疗组心肌炎症反应及病毒分离明显低于对照组,小柴胡汤能够调节T细胞亚群,影响抗心肌抗体的产生,有助于机体清除病毒。蒋丽敏等<sup>[4]</sup>通过对大鼠体外CVB3心肌炎模型的治疗发现,病毒感染组心肌酶升高与细胞病变同步,小柴胡汤抑制心肌酶升高和抑制细胞病变亦同步发生,二者一致性更显示小柴胡汤可能具有抗CVB3感染和保护心肌细胞的作用。

我们选用小柴胡汤中3种单味药柴胡、黄芩、炙甘草,分别对CVB3感染的VMC小鼠进行治疗。结果显示柴胡、炙甘草在早期有效,黄芩在14d后有效。产生此结果可能系:甘草:具有肾上腺皮质激素样作用,可抗病毒、抗炎、抗变态反应。抗病毒主要系甘草甜素和甘草多糖,其既可直接清除病毒颗粒,又可诱生干扰素,增加自然杀伤(NK)细胞活性的作用,使组织细胞得到保护。抗炎被认为和降低组织细胞对PGE<sub>2</sub>(前列腺素E<sub>2</sub>)、MIF(巨噬细胞移动抑制因子)等活性因子的反应性有关。故此实验中炙甘草组小鼠在第5,7天心肌组织中炎细胞浸润、坏死明显低于对照组。黄芩:主要含黄芩甙,具有解热、利尿、抗菌、抗病毒、抗真菌、镇静及降压等作用。黄芩甙对细胞膜上Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATP酶有稳定保护作用,对减轻细胞水肿、保护细胞功能有重要作用。有研究报道<sup>[6]</sup>黄芩甙可保护心肌组织的

SOD(超氧化物歧化酶)活力,增强内源性氧自由基清除系统的功能。病毒损伤心肌后,心肌缺血期细胞内游离钙浓度增高,Ca<sup>2+</sup>可激活催化黄嘌呤脱氢酶转变为黄嘌呤氧化酶的蛋白水解酶,加强氧自由基生成的黄嘌呤氧化酶途径。氧自由基引起的膜脂质过氧化反应,可使膜对Ca<sup>2+</sup>的通透性增加,进一步加剧细胞内钙聚集。而黄芩甙具有钙拮抗作用,抑制Ca<sup>2+</sup>内流,减轻细胞水肿、坏死。黄芩组在早期与对照组无差别可能是其对CVB3无直接作用。

柴胡:具有透表泄热,抗菌、抗病毒的作用。动物实验证明柴胡有很好的解热作用;能抑制结核杆菌的生长,对结核病有效;对流感病毒有抑制作用,可防治流感。早期柴胡组与对照组即有显著差别,与其抗病毒作用密不可分。

3种单味药在不同时间对心肌的保护作用提示,小柴胡汤抗炎、免疫调节作用是通过各种单味药合力发挥的,它们可能通过相互协调和促进,增强了疗效;同时经过相互抑制和制约,减低或消除了药物的毒副作用。其中是否产生了新的活性物质,尚待进一步研究。

#### [参 考 文 献]

- [1] Rezkalla S, Kloner RA, Khatib G, et al. Beneficial effects of captopril in acute coxsackievirus B3 murine myocarditis [J]. *Circulation*, 1990, 81(3): 1039-1040.
- [2] 雨谷荣,荻原幸夫. 从药理和药化探讨小柴胡汤 [J]. *国外医学中医中药分册*, 1990, 12(1): 10-13.
- [3] 王西栋,张广兰,梁玉梅,等. 小柴胡汤对病毒性心肌炎动物模型治疗作用的实验研究 [J]. *中国中药杂志*, 1997, 22(11): 684-686.
- [4] 蒋丽敏,王雪峰,魏克伦,等. 小柴胡汤对体外新生大鼠柯萨奇病毒B3心肌炎模型的酶学与细胞病变的影响 [J]. *中华围产医学杂志*, 2000, 3(1): 53-55.
- [5] 黑爱莲,徐平湘,孙颂三,等. 黄芩甙对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌损伤的保护作用 [J]. *首都医科大学学报*, 1999, 20(2): 86-88.

(本文编辑:俞燕)