

# 阿糖腺苷和刺参多糖抗单纯疱疹病毒的实验研究

陈祖基 高长风 张 勇

(河南省眼科研究所, 郑州)

单纯疱疹病毒(简称 HSV)是人类常见病毒性疾病的病原之一。它所引起的常见病有疱疹性皮炎, 疱疹性角膜炎及疱疹性脑炎等。近来又指出 HSV 可能与动物肿瘤有直接或间接的关系。但是人们熟知的有抗 HSV 作用的核苷类似物——碘苷(IDU)和阿糖胞苷(Ara-C), 毒性较大, 碘苷又具致癌和致畸胎作用<sup>[1]</sup>。为此, 我们在组织培养、小鼠和家兔实验中, 对阿糖腺苷(Ara-A)和刺参多糖(SJAMPS)的抗 HSV 作用进行了研究, 其结果报道如下。

## 材 料 与 方 法

### 一、材料

1. 药物: (1)阿糖腺苷(Ara-A): 由北京医学院药学系供给。(2)刺参多糖(SJAMPS): 由天津药物研究所供给。两种药物分别配成 1% 溶液, 于 100℃ 水浴中煮沸 30 分钟, 冷却后置冰箱备用。实验前用 Hanks 液稀释至所需浓度。

2. 病毒溶液: 单纯疱疹病毒 I 型在原代乳

兔肾细胞中传代,毒力维持在 $10^6$  TCID<sub>50</sub>\*左右,稀释浓度为 $10^{-1}$ — $10^{-6}$ 。置-40℃低温冰箱保存备用。

3.实验动物:小鼠10只,体重在10—12克。家兔4只,体重在4斤左右,角膜无损伤,体质健壮。

二、方法

(一) 组织培养

待原代兔肾细胞长成单层后进行实验。以 HSV 所致的特异性细胞病变作为观察药物作用的指标。如细胞不出现病毒特异性病变,说明药物具有抑毒作用。

(二) 动物实验

1.小鼠 HSV 感染的治疗: 向小鼠脑内接种 32 或 320 TCID<sub>50</sub> 的 HSV 液 0.03 毫升,于接种后 4 小时,分别再向腹腔注射 SJAMPS 和 Ara-A 各 50 毫克/公斤,每天一次,共 7 次,连续观察 14 天。以小鼠的死亡率和平均存活日期判断药物的抗病毒活性,每 10 只小鼠为一组。

2.兔眼 HSV 角膜炎的治疗: 用角膜环钻(直径 6 毫米)在兔眼角膜中央轻轻钻一伤痕,深约 0.01—0.05 毫米。再在结膜囊内滴一滴 HSV 液( $10^{6.5}$ TCID<sub>50</sub>),使在角膜表面停留 30 秒钟,感染 48 小时后,所有实验兔眼角膜均发生 HSV 病变。然后分组治疗(每组 4 兔 8 眼)。二个治疗组分别用 0.5% SJAMPS 液和 0.5% Ara-A 混悬液(二药均用 1.4% 聚乙烯醇液配制)滴眼,对照组用生理盐水滴眼,每小时一次,每次 2 滴,一日 10 次,连续 7 天。在治疗前和治疗后 2、4、6、8、10 天分别以 0.5% 荧光素染色,放大镜检查,按 Pavan-Langston 等<sup>[2]</sup>方法,观察角膜荧光素着色范围。比较治疗组和对照组角膜病变程度,以判断药物的疗效。

实 验 结 果

一、SJAMPS 和 Ara-A 对 HSV 的抑制作用

SJAMPS 和 Ara-A 分别与不同稀释度的病毒液( $10^{-1}$ — $10^{-6}$ )同时注入细胞管,37℃ 培养 7 天。观察病毒所致的特异性细胞病变,计算

表 1 SJAMPS 和 Ara-A 在组织培养中的抗 HSV 作用

药 物		病毒滴度 (TCID <sub>50</sub> 的对数值)		抑制对数指数
名 称	浓度(微克/毫升)	实 验 组	对 照 组	
Ara-A	100	1.75±0.37	6.31±0.42	4.59(p<0.01)
	50	3.23±0.41	6.31±0.42	3.11(p<0.01)
	25	5.00±0.44	6.31±0.42	1.34(p<0.05)
	10	6.50±0.36	6.31±0.42	-0.16
SJAMPS	100	1.25±0.38	6.50±0.31	5.25(p<0.01)
	10	3.25±0.44	6.50±0.31	3.25(p<0.01)
	1	6.00±0.26	6.50±0.31	0.50(p>0.05)

表 2 SJAMPS 和 Ara-A 对小鼠 HSV 感染的作用

	脑 内 接 种						腹 腔 接 种		
	32 TCID <sub>50</sub>			320 TCID <sub>50</sub>			10 <sup>5.5</sup> TCID <sub>50</sub>		
	SJAMPS	Ara-A	对 照	SJAMPS	Ara-A	对 照	SJAMPS	Ara-A	对 照
死亡数/接种数	9/10	6/10	8/10	10/10	7/9	9/10	10/10	6/10	10/10
死亡百分率(%)	90	60	80	100	77.8	90	100	60	100
平均存活天数	8.8	10.9	9.5	8.3	8.9	7.2	5.3	9.2	4.6
χ <sup>2</sup> 及 t 值测验		p>0.05			p>0.05			χ <sup>2</sup> = p<0.01 t = p<0.01	

\* TCID<sub>50</sub> = 半数组织培养感染量。

表 3 SJAMPS 和 Ara-A 对兔眼 HSV 角膜炎的治疗作用

		角膜病变范围平均值 (8 眼)		
		对 照	SJAMPS	Ara-A
治 疗 前		0.20	0.20	0.20
治疗后(天)	2	1.02	0.45( $p>0.05$ )	0.40( $p>0.05$ )
	4	1.38	0.80( $p>0.05$ )	0.50( $p<0.05$ )
	6	1.51	0.95( $p>0.05$ )	0.50( $p<0.01$ )
	8	1.53	1.30( $p>0.05$ )	0.50( $p<0.01$ )
	10	1.00	1.20( $p>0.05$ )	0.35( $p<0.05$ )

对照组和各药物浓度组的 TCID<sub>50</sub>, 得出药物抑制 HSV 的最低有效浓度: SJAMPS 为 10 微克/毫升, Ara-A 为 25 微克/毫升(见表 1)。

## 二、SJAMPS 和 Ara-A 对小鼠 HSV 感染的治疗作用 (见表 2)

表 2 结果说明, 无论在小鼠的脑内或腹腔内接种 HSV, SJAMPS 均无抗 HSV 作用。Ara-A 对脑内接种 HSV 的亦无明显作用, 但对腹腔接种 HSV 的, 能明显降低小鼠死亡率和延长小鼠的存活天数。

## 三、SJAMPS 和 Ara-A 对兔眼 HSV 角膜炎的治疗作用

比较治疗组和对照组的兔眼 HSV 角膜炎病变程度, 来判断药物的疗效。结果见表 3。

表 3 结果证明, 对照组病变逐渐加重, 在感染后 4—5 天发展为盘状角膜炎, 睫状充血, 虹膜充血, 造成深实质层型病变和 HSV 虹膜炎。Ara-A 组在治疗后的第 4 天就有显著疗效, 6—8 天时疗效更为明显。SJAMPS 组在治疗中与对照组无显著差异。

## 讨 论

1. Ara-A 最初是由抗生素链霉菌 (*Streptomyces antibioticus*) 发酵液中获得的一种嘌呤类似物。1960 年人工合成, 作为抗肿瘤药物。经动物实验证明, 3.3% Ara-A 眼膏和 0.5% IDU 眼膏对浅层树枝状角膜炎的疗效相当。以局部点眼和结膜下注射的方法, 治疗深层 HSV 角膜炎和 HSV 虹膜炎均有疗效<sup>[3,4]</sup>。Ara-A 在组织

培养中的最低有效浓度为 25 微克/毫升, 与文献报道相似。

2. 小鼠 HSV 感染的实验结果表明, 对脑内接种 HSV 的小鼠, 用 Ara-A 治疗无效, 对其死亡率和平均存活日期均无明显影响, 其原因可能存在着 Ara-A 能否穿透血—脑屏障问题。对腹腔接种 HSV 的小鼠, Ara-A 则能明显降低死亡率和延长平均存活日期。

3. 在兔眼 HSV 角膜炎治疗实验中, 对照组出现深实质层型 HSV 角膜炎和 HSV 虹膜炎。用 0.5% Ara-A 混悬液治疗组, 获得了显著疗效。而且该药浓度比一般文献报道的还低 (一般用 3.3% Ara-A 眼膏), 能获得同样效果, 可能与 1.4% 聚乙烯醇溶液作为溶媒有关。因 1.4% 聚乙烯醇具有延长药物在结膜囊内的浓度, 增强角膜透性的功能。

4. SJAMPS 是由刺参 (*Stichopus Japonicus*) 中提取的一种酸性粘多糖 (Acid Mucopolysaccharide) 物质。在组织培养中, SJAMPS 具有明显的抗 HSV 作用, 最低有效浓度为 10 微克/毫升, 但对小鼠 HSV 脑炎和兔眼 HSV 角膜炎却无疗效, 说明 SJAMPS 具有体外抑毒作用。

## 参 考 文 献

- [1] Overby, L. R. et al.: *Antimicrob. Ag. Chemother.* 6: 360, 1974.
- [2] Pavan-Langston, D. et al.: *Arch. Ophthalmol.* 92: 417, 1974.
- [3] Kaufman, H. E. et al.: *Arch. Ophthalmol.* 84: 783, 1970.
- [4] 梶原功一 他: 日眼会誌, 81: 1274, 1977.