

青蒿素及其衍生物免疫调节研究概况

★ 易剑峰 王珏 林色奇 (江西中医学院 南昌 330006)

★ 吕爱平 (江西中医学院国家工程研究中心 南昌 330006)

关键词:青蒿素;免疫调节;综述

中图分类号:R 392.5 文献标识码:A

青蒿素是从菊科艾属黄花蒿茎叶中提取的一种含过氧基团的倍半萜内酯,经化学改造可生成多种衍生物,如双氢青蒿素、蒿甲醚、青蒿琥酯等。对青蒿素免疫作用的研究是鉴于它对脑型疟疾有效;脑型疟疾的发病机制与自身免疫有关,因而推测青蒿素除直接杀灭疟原虫外,可能还具有免疫调节功能。下面就其免疫作用做一简要概述。

1 对免疫细胞的影响

1.1 对 T 细胞影响 林培英等^[1]研究表明青蒿素、青蒿琥酯均对绵羊红细胞超适量免疫(SOI)诱导供体鼠 T 抑制细胞(Ts)细胞有显著抑制作用,对受体鼠效应阶段 Ts 细胞的活性有增强作用,而蒿甲醚对供体鼠和受体鼠产生的 Ts 细胞均无影响。说明青蒿素、青蒿琥酯可通过 Ts 细胞进行免疫调节。张剑勇等^[2]研究发现青蒿琥酯与苓丹片配用也能使活动期狼疮(SLE)性小鼠高水平的 Ts 降至正常。SLE 性小鼠 T、Th 和 Th/Ts 值均明显偏低, Ts 则显著增高,用青蒿琥酯配用苓丹片及少量激素能显著升高 T、T 辅助细胞(Th)、Th/Ts 水平,随后的研究亦证实了这点。通过对 T 细胞表面标志分子的观察,发现这组用药能够升高 CD₃、CD₄ 及 CD₄/CD₈ 的比值^[3]。T 细胞表面有多种标志性抗原,CD₃ 标志总 T 细胞,CD₄ 主要表达于外周血成熟 T 细胞和胸腺细胞,CD₈ 表达于 T 细胞及某些自然杀伤细胞(NK)。目前通常以 CD₄ 及 CD₈ 区分功能性 T 细胞, Th、Ts 和 T 细胞毒细胞(Tc),有报道显示双氢青蒿素主要对 CD₈T 细胞产生增殖作用^[4]。

从上可知,青蒿素及其衍生物对 T 细胞及其亚群的影响具有双向调节性。一方面在免疫系统紊乱时它对 T 细胞亚群所形成的细胞网络具有调节稳定的作用,另一方面确能增强 T 细胞及其亚群的活性。其具体机制还需做进一步的探讨。

1.2 对 NK 细胞、巨噬细胞等的影响 有报道提示青蒿素对 NK 细胞具有较强的抑制作用^[5],同时还能提高巨噬细胞、中性粒细胞的吞噬活性^[6]。另一方面青蒿琥酯通过抑制白三烯 B₄(LTB₄)引起的多形核细胞(PMN)浸润的能力及 IL-8 所致的嗜中性粒细胞的趋化而达到非特异性抗炎目的^[7]。NK 细胞是重要的免疫活性细胞,其主要功能是参与免疫调节,可作用于 T、B 细胞对免疫系统起广泛的调节作用。青蒿琥酯对 NK 细胞的抑制作用呈单向性^[5],作用机理可能是青蒿琥酯能提高 a-AT 的抑制活力,它对 NK 细胞活性有抑制作用^[8]。青蒿琥酯对 NK 细胞所介导的 ADCC(抗体依赖性细胞毒)效应参与 II、IV 型变态反应有显著的抑制性作用^[5]。有人认为青蒿琥酯有效救治脑型等凶险性疟疾的机理可能与其对红细胞免疫功能的调节作用有关^[9],但周平在给小鼠腹腔注射青蒿琥酯 25 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续 6 天,发现其对小鼠红细胞 C36 受体花环率(红细胞免疫粘附功能)无明显增强作用^[10]。

2 对细胞因子的影响

青蒿琥酯可显著抑制小鼠脾淋巴细胞 IL-2 分泌^[10],同时对 IL-1 的分泌亦能产生抑制作用^[11],可通过抑制 IL-1、IL-2 的分泌阻止淋巴细胞从 G₁ 期进入 S 期,使淋巴细胞增殖反应降低,从而发挥其免疫抑制作用。IL-2 具有促进 T 细胞增殖,促进 Tc 细胞杀伤作用,增强 NK 细胞活性等作用。在一定意义上, IL-2 产生的能力反映出辅助性 T 细胞的功能,也反映出细胞免疫状况。而 IL-1 能促进单核/巨噬细胞分泌 TNF- α 和 NO,促进合成炎性细胞因子(IL-1, IL-6 以及 TNF- α)和粘附分子^[12],还能诱导活化的 Th1 细胞分泌 IL-2。青蒿琥酯与苓丹片配伍能使系统性红斑狼疮患者低水平的 IL-2 增殖,同时降低 sLR-2R 水平^[13]。人类 IL-2R 由 α 和

β 多肽链组成,由活化 T 细胞膜上表达的 IL-2R 称膜 IL-2R (mIL-2R),当 α 链脱落到血清,称为 sIL-2R。IL-2 通过与免疫细胞表达的特异性 IL-2R 结合,传导 IL-2 信号而发挥作用。两者竞争性地与 IL-2 结合,起到免疫调控作用。当免疫系统活化时,sIL-2R 增高,通过阻断 IL-2 的活性,抑制 IL-2 介导的细胞免疫反应,导致发病^[14]。青蒿琥酯亦可使狼疮样小鼠血清 IL-6 下降^[15]。IL-6 是 B 细胞终末分化并分泌抗体的必需因子,IL-6 高表达后,导致 B 细胞活性增强和产生大量的自身抗体,在许多自身免疫病中出现的自身抗体都可能与 IL-6 的高表达有关。因此,抑制 IL-6 的分泌能够调节体液免疫。

董妍君等在研究中发现 125、25、5 mg/kg 3 个剂量的双氢青蒿素均能抑制血清中前炎症因子 TNF- α 的分泌,同时青蒿琥酯亦可明显抑制 TNF- α 产生^[16],TNF- α 是巨噬细胞受炎症刺激时分泌的具有广泛生物学活性的多肽,是重要的免疫因子,主要参与炎症的调控,有学者认为它与细胞凋亡亦有一定关系^[17]。青蒿琥酯对 NO 产生也有明显的抑制作用^[17]。NO 除了是重要的炎症介质,许多研究还提示 NO 是一种免疫抑制分子,可抑制宿主体内的免疫应答。它能抑制大鼠脾淋巴细胞增殖,抑制 Th1 细胞分泌 IL-2 和 IFN- γ ,促进 Th2 细胞分泌 IL-4,所以从这点来看青蒿琥酯抑制 NO 产生具有促进细胞免疫、抑制体液免疫的效用^[10]。

TGF- β 是近年来日益受到众多学者重视的一类免疫因子,它能抑制各类淋巴细胞增殖和发挥功能,T 细胞活化时 TGF- β 减少,使抑制 Ig 合成的功能减弱,从而导致 B 细胞活性增强,Ig 合成增多。现已知 TGF- β 具有下调 Th1、Th2 及其它免疫细胞的能力,并能辅助 IgA 的产生,而且同淋巴细胞向高内皮静脉的归巢机制相关。TGF- β 基因缺陷小鼠可能引起多器官感染,证明 TGF- β 在维持免疫自稳中起着重要作用^[18]。青蒿琥酯能使狼疮样小鼠血清低水平的 TGF- β 恢复正常^[19]。

NF- κ B 作为参与细胞信号转导的重要转录因子,其主要生物学功能是调控基因特别是免疫炎症相关基因的转录,包括 IL-1 β 、TNF- α 、ICAM-1、IL-6、IL-15、iNOS 等细胞因子基因的表达,从而在机体免疫炎症反应和免疫应答中起重要作用^[20],事实上许多免疫性疾病都存在 NF- κ B 的失调^[21]。青蒿素可通过对 NF- κ B 的烷化或阻止其抑制蛋白 I κ B 的降解,而达到抑制核转录因子 NF- κ B 的活性。在静止条件下,NF- κ B 以 NF- κ B-I κ B 复合物的形式存在

于胞浆中,当被激活时,I κ B 相继发生磷酸化、泛素化、蛋白酶水解而降解,游离的 NF- κ B 得以快速转移至细胞核内,调节特定基因的转录活性。Aldieri 等证实青蒿素或青蒿琥酯能够有效阻止 LPS、IL-1 β 、TNF- α 、INF- γ 混合因子诱导的 I κ B- α 的降解从而抑制 NF- κ B 激活^[22]。NF- κ B 作为由两种 Rel 家族蛋白(p50/p65)构成的异二聚体,其转录激活区域在 p65 蛋白的 C 末端,有实验表明,双氢青蒿素能够抑制 NF- κ B p65 的表达^[23]。

3 对体液免疫及非特异性免疫的影响

众多实验证实青蒿素及其衍生物能明显抑制体液免疫。双氢青蒿素可直接抑制 B 淋巴细胞增殖,同时促进 CD₄T 细胞和 CD₈T 细胞的增殖,尤其是 CD₈T 细胞增殖明显,减少 B 细胞分泌自身抗体,降低体液免疫反应,减轻免疫复合物的形成,提示对体液免疫有抑制作用^[4];青蒿素、青蒿琥酯能增强脾脏效应阶段 Ts 细胞的活化以达到对体液免疫的抑制作用^[1],高水平的 Ts 细胞会导致抗体水平明显降低^[24];资料显示青蒿琥酯亦可显著减少绵羊红细胞(SRBC)致敏小鼠血清 IgG 水平,抑制抗体生成^[25]。青蒿琥酯对非特异性免疫具有增强作用,它能提高小鼠血清总补体的活性^[9]。

4 对细胞凋亡的影响

近年来随着众多学者对青蒿素抗肿瘤研究的深入,人们逐渐发现了青蒿素具有明显的促进细胞凋亡的作用,李哲认为青蒿琥酯诱导肿瘤细胞凋亡效应的机制,除了通过在细胞内产生自由基的继发损伤以外,还与抑制 IAPs 家族成员——survivin 基因的表达有关,青蒿琥酯通过抑制 survivin 蛋白表达,间接增强了肿瘤细胞内 Caspase 蛋白酶家族成员的活性(尤其是 Caspase 3),使肿瘤细胞更容易发生凋亡^[26]。关于青蒿琥酯如何抑制 survivin mRNA 表达的机制尚需进一步探讨。

5 结语

青蒿素及其衍生物的免疫作用与剂量有很大的依赖关系,如中等剂量的青蒿琥酯(小鼠剂量 200 mg·kg⁻¹·d⁻¹)可抑制小鼠变应性接触性皮炎、系统性红斑狼疮样等小鼠模型,小剂量的(小鼠剂量 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹)则能够促进小鼠巨噬细胞、中性粒细胞的吞噬功能^[27];资料显示青蒿琥酯对小鼠 NK 细胞的抑制作用与剂量大小亦有很大的关系,剂量越大抑制作用越强,小剂量则无明显影响^[6];另外有人认为小剂量的青蒿琥酯有免疫增强作用,大剂量时有免疫抑制作用^[28]。其作用还可能与溶度有关,如 6.5×10⁻⁵ mol/L 的青蒿琥酯可显著抑制小鼠脾

淋巴细胞 IL-2 分泌,而在 $0.13 \times 10^{-5} \sim 2.6 \times 10^{-5}$ mol/L 时则对 IL-2 分泌活性无明显影响^[12]。为什么存在这一情况还有待于进一步的研究。

目前,青蒿素类药物对免疫系统作用的研究还处于初步阶段,许多结果还需进一步验证,而且由于条件或模型不一样,导致其结果也不一样,如高玉祥观察到青蒿琥酯对小鼠巨噬细胞的吞噬功能有促进作用^[27],而有的学者则发现它能减少腹腔巨噬细胞的吞噬百分率和吞噬指数^[25]。但也取得了许多肯定性效果,动物模型研究表明,青蒿琥酯对小鼠和豚鼠实验性变应性接触性皮炎(ACD)、实验性自身免疫性肌炎模型、小鼠全身性光变态反应及小鼠系统性红斑狼疮模型治疗后,均有明显的抑制作用,为青蒿素类药物治疗 SLE 及其他免疫性疾病奠定了基础。总的来说,多数学者认为青蒿素及其衍生物对体液免疫有抑制作用,对细胞免疫有促进作用。

参考文献

- [1]林培英,张丹,肖柳英,等.青蒿素、青蒿酯和蒿甲醚对抑制性 T 细胞的作用[J].广州医药,1998,29(1):37~39
- [2]张剑勇,钟嘉熙,戴馨仪,等.苓丹片、青蒿琥酯对 SLE 小鼠 T 淋巴细胞亚群的影响[J].中药药理与临床,1998,14(6):27~29
- [3]张剑勇,钟嘉熙,史志云,等.苓丹片、青蒿琥酯对系统性红斑狼疮患者 T 细胞亚群的影响[J].中国中西医结合杂志,2002,22(7):489
- [4]徐丽敏,陈学荣,屠呦呦.双氢青蒿素对狼疮性 BXSB 小鼠的作用[J].中国中西医结合皮肤性病杂志,2002,1(1):19~20
- [5]周平,高玉祥.青蒿琥酯对 NK 细胞活性及 ADCC 活性的影响[J].蚌埠医学院学报,1995,20(6):363
- [6]高玉祥.青蒿琥酯免疫作用的研究[J].蚌埠医学院学报,1998,23(5):289
- [7]王国江,顾青,张海清.青蒿琥酯对中性粒细胞趋化的影响[J].中国皮肤性病杂志,2004,18(7):391~393
- [8]Redelman D, Hudig D. The mechanism of cell-mediated cytotoxicity[J]. J Immunol, 1980, 124(2):870
- [9]蒋江红.青蒿琥酯的药理研究摘要[J].中医药学刊,2003,21(9):1052
- [10]周平,高玉祥.青蒿琥酯对小鼠免疫功能的影响[J].蚌埠医学院学报,1996,21(1):5
- [11]李文桂,陈雅棠,刘成伟,等.双氢青蒿素对患卡氏肺孢子虫肺炎大鼠血清和肺泡巨噬细胞上清液 IL-1 水平的影响[J].地方病通报,2002,17(4):12~15
- [12]Scot P, Pearce E, Cheever AW, et al. Role of cytolytic and CD4+ T cell subsets in the regulation of parasite immunity and diseases[J]. Immunological Review, 1989, 112:161~198
- [13]张剑勇,钟嘉熙,彭胜权,等.苓丹片、青蒿琥酯对系统性红斑狼疮患者 IL-2 与 sIL-2R 影响的研究[J].河南中医学院学报,2003,18(105):38~39
- [14]Kott E, Hahn T, Huberman M, et al. Interferon system and natural killer cell activity in myasthenia gravis[J]. QJ Med, 1990, 76:951~960
- [15]朱卫星,顾军.青蒿琥酯对狼疮样小鼠血清白细胞介素-6 和转化生长因子-β 的影响[J].中国麻风皮肤病杂志,2004,20(4):318~319
- [16]李文桂,陈雅棠,刘成伟.双氢青蒿素治疗对卡氏肺孢子虫肺炎大鼠肺泡巨噬细胞上清液 TNF-α 和 NO 水平的影响[J].中国人兽共患病杂志,2001,17(5):72~74
- [17]Nagy L, Kao H Y, Chakravarti D, et al. Nuclear receptor repression mediated by a complex containing SMRT, mSin3A, and histone deacetylase[J]. Cell, 1997, 89:373
- [18]Youhai chen. Regulation of TH2 response[J]. Immunology, 1997, 92:328
- [19]朱卫星,顾军.青蒿琥酯对狼疮样小鼠血清白细胞介素-6 和转化生长因子-β 的影响[J].中国麻风皮肤病杂志,2004,20(4):318~319
- [20]Sergei S, Makarov. NF-κB as a therapeutic target in chronic inflammation: Recent advances[J]. Molecular Medicine Today, 2000, 6:441~448
- [21]许韩师,叶任高,张式鸿,等.系统性红斑狼疮患者外周血单核细胞 NF-κB 信号通路活化检测[J].中华皮肤科杂志,2001,34(1):18~21
- [22]Aldieri E, Atragne D, Bergandi L, et al. Artemisinin inhibits inducible nitric oxide synthase and nuclear factor NF-κB activation[J]. FEBS Letters, 2003, 552(2-3):141~144
- [23]董妍君,李卫东,屠呦呦,等.双氢青蒿素对 BXSB 小鼠狼疮肾炎的作用及机制研究[J].中国药理学通报,2003,19(10):1125~1128
- [24]Paul RD, Chaffar AM. Selective action of alkylating agents against cells participating in suppression of anti-body response[J]. Immunopharmacol, 1982, 4(3):159
- [25]Lin P Y, Feng Z M, Pan J Q, et al. Effects of artesunate on immune function in mice[J]. Acta Pharmacologica sinica, 1995, 16(5):441
- [26]李哲,袁守军,聂丽平,等.青蒿琥酯诱导肿瘤细胞凋亡与抑制存活蛋白表达有关[J].中国临床药理学与治疗学,2004,9(6):610
- [27]张汝芝,高玉祥.青蒿琥酯对小鼠吞噬细胞功能的影响[J].中国皮肤性病杂志,1999,13(4):205~206
- [28]Chen H, Maibach HI. Topical application of artesunate on guinea pig allergic contact dermatitis[J]. Contact Dermatitis, 1994, 30(5):280

(收稿日期:2005-12-10)

欢 迎 投 稿 ! 欢 迎 订 阅 !