

青蒿素及其衍生物免疫抑制作用在防治葡萄膜炎中的前景

孙晓茹¹, 毕宏生², 郭俊国²

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81072961)

作者单位:¹(250355)中国山东省济南市,山东中医药大学第一临床学院;²(250002)中国山东省济南市,山东中医药大学附属眼科医院 山东中医药大学眼科研究所

作者简介:孙晓茹,女,在读硕士研究生,研究方向:眼科疾病。

通讯作者:毕宏生,男,博士研究生导师,主任医师,教授,山东中医药大学附属眼科医院院长,研究方向:白内障、屈光学、眼底病. bi66hong66@yahoo.com.cn

收稿日期:2012-02-13 修回日期:2012-04-17

Prospect of immunosuppression of Artemisinin and its derivatives in uveitis control

Xiao-Ru Sun¹, Hong-Sheng Bi², Jun-Guo Guo²

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81072961)

¹the First Clinical College of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China; ²the Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China

Correspondence to: Hong-Sheng Bi, the Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China. bi66hong66@yahoo.com.cn

Received: 2012-02-13 Accepted: 2012-04-17

Abstract

• Artemisinin is extracted from herbal medicine, *Artemisia annua* L, which can be made into many derivatives after chemical alteration. With further research into the pharmacological effects of artemisinin and its derivatives, immunosuppression effect was discovered. Considering the clinical application of artemisinin and its derivatives, the prospect of immunosuppression effect in uveitis control is very promising.

• KEYWORDS: uveitis; artemisinin; immunosuppression

Sun XR, Bi HS, Guo JG. Prospect of immunosuppression of Artemisinin and its derivatives in uveitis control. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(6):1078-1080

摘要

青蒿素是从中药青蒿中提取的药物,经化学改造可生成多种衍生物,随着对青蒿素及其衍生物药理作用的不断研究深入,发现其还具有较强的免疫抑制作用。鉴于青蒿素及其衍生物的临床应用和葡萄膜炎的免疫发病机制,青蒿素及其衍生物应用于葡萄膜炎前景十分广阔。

关键词:葡萄膜炎;青蒿素;免疫抑制

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.06.20

孙晓茹,毕宏生,郭俊国.青蒿素及其衍生物免疫抑制作用在防治葡萄膜炎中的前景.国际眼科杂志 2012;12(6):1078-1080

0 引言

青蒿素是从中药青蒿中提取的有过氧基团的倍半萜内酯药物,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、蒿乙醚等,青蒿素及其衍生物具有抗疟、抗孕、抗纤维化、抗吸血虫等药理作用。如今青蒿素及其衍生物在临床主要应用于多种自身免疫性疾病,如脑型疟疾,并取得了较好的效果且副作用低。随着对青蒿素及其衍生物药理作用的不断研究深入,发现其还具有较强的免疫抑制作用。葡萄膜炎是一类严重危害视觉健康且多发于青壮年及儿童的常见致盲性眼病,其导致的盲目多为不可治盲,给社会和家庭造成了严重的负担,目前无理想的治疗方法,主要给予免疫抑制剂和激素治疗。近年来,一些新的免疫抑制剂如 FK506 等已经开始应用于葡萄膜炎的治疗,一些诱导免疫耐受的方法正在进行动物实验,并取得了良好的效果。鉴于青蒿素及其衍生物的临床应用和葡萄膜炎的免疫发病机制,现将青蒿素及其衍生物应用于葡萄膜炎的免疫治疗前景综述如下。

1 葡萄膜炎的免疫发病机制

葡萄膜炎的发病机制一直是眼科研究的重点领域之一,其中最主要的方面是诱导葡萄膜炎模型,早年多利用感染因子诱导葡萄膜炎模型,近年来则多利用细菌内毒素或眼部抗原诱导葡萄膜炎模型,最近人们开始用转基因小鼠(如表达鸡蛋溶菌酶或半乳糖苷酶的小鼠、HLA-DR3 转基因小鼠)进行葡萄膜炎的诱导实验^[1]。视网膜膜中存在多种天然抗原,每种抗原都有可能致葡萄膜炎的活性多肽。目前葡萄膜炎的病因和发病机制有:感染因素、自身免疫因素、氧化损伤因素、免疫遗传机制等,其中免疫和自身免疫反应是葡萄膜炎发生的重要发病因素。

1.1 致病性 T 细胞群 葡萄膜炎多是因眼内自身抗原引起自身反应性辅助性 T 细胞 (TH 细胞) 激活和增殖所致。有几个以前不为人知的基因对自身免疫性葡萄膜炎

有影响,包括 IL-22, IL-19, IL-20 和 IL-25/IL-17E^[2]。根据最新研究 Toll 样受体-4 (Toll-like receptor4, TLR-4) 对于微生物或其高度保守的病原相关模式的识别可能是非感染性免疫介导的急性前葡萄膜炎发病的重要因素^[3]。TLR-4 作为脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 的识别受体,其基因的外显子 Asp299Gly 和 Thr399Ile 的突变,可改变 TLR-4 的细胞外结构,导致对 LPS 无反应或 LPS 信号通路抑制^[4]。

1.2 Th 细胞 在 EAU 动物模型中发现使用外源性 IL-10 可以阻止 EAU 的发生,而使用抗 IL-10 抗体则可使 EAU 的病情加重,体外研究也发现 IL-10 能够完全抑制葡萄膜炎 Th1 细胞的功能, TGF- β 可能共同参与了其抑制功能^[5]。另外, Th17 细胞在葡萄膜炎发病中也起到重要作用^[6]。实验发现,葡萄膜炎患者外周单个核细胞培养上清中 IFN- γ 及 TNF- α 的表达升高,进一步证实了葡萄膜炎由 Th1 细胞介导的疾病, IFN- γ 与 TNF- α 可能发挥着重要的致炎作用^[7]。还有学者认为,病原微生物的持续感染导致机体内环境免疫应答紊乱可能是自身免疫性葡萄膜炎发生的重要原因^[8]。

1.3 CD4⁺CD8⁺致葡萄膜炎 T 细胞 CD4⁺CD8⁺调节性 T 细胞 (CD4⁺CD8⁺regulatory T cells, CD4⁺CD8⁺Treg 细胞) 是一群具有免疫抑制功能的 T 细胞。实验证实该细胞具有抑制自身反应性 T, B 细胞的活化、增殖和免疫球蛋白分泌以及各种炎性细胞因子产生的作用。激活的 CD8⁺ 细胞的生长和扩增可以通过多种生长因子支持,包括激活的 CD4⁺T 细胞产生的因子,非淋巴样细胞产生的因子如 IL-7, IL-15, 以及星形细胞和视网膜色素上皮细胞培养产生的上清,以上均支持 CD8⁺T 细胞的生长和扩增^[9]。

2 青蒿素及其衍生物对免疫系统的影响

近年来有许多基础与临床研究表明青蒿素及其衍生物对免疫系统有调节作用,可分为免疫增强作用和免疫抑制作用。Li 等^[10] 研究表明青蒿素的衍生物青蒿琥酯可以提高 PHA 诱导的小鼠淋巴细胞转化率,增加其脾脏重量,可以增强二硝基氟苯诱导的迟发型超敏反应,因此青蒿琥酯有增强细胞免疫的作用。

最近在青蒿素类衍生物的免疫抑制活性研究中发现,经过结构改造合成的新型青蒿素类衍生物的免疫抑制活性有大幅提高,同时这类青蒿素衍生物保留了在体内低毒的特性,有望发展成为一类新型免疫抑制剂^[11]。青蒿素类衍生物对关节炎具有一定疗效,青蒿琥酯可抑制人的类风湿性关节炎成纤维样滑膜细胞内血管内皮生长因子和低氧诱导因子-1 α 的表达,具有治疗类风湿关节炎滑膜炎的作用^[12]。青蒿素及其衍生物中都含有过氧桥结构,研究表明青蒿素等药物的抗疟作用可能与铁介导的药物过氧桥裂解产生自由基有关,这种结构可能是其杀伤具有耐药性的脑型疟及肿瘤细胞的作用基础^[13]。青蒿素类药物还具有抗脓毒症作用,郭进强等^[14] 报道青蒿琥酯可通过抗脂质过氧化保护重要脏器功能,对中暑内毒素血症小鼠产生保护作用。

2.1 细胞分子研究 双氢青蒿素、青蒿琥酯均对超适剂量免疫法诱导的供体鼠 T 细胞产生有显著抑制作用,且两者都能增强受体鼠反应阶段细胞的活性^[15]。中国科学院上海药物研究所的研究显示:蒿甲醚^[16] 等青蒿素类衍生物具有广泛的免疫抑制效应,包括抑制 T 细胞增殖分裂、阻止促炎因子及炎症介质的释放、抑制 B 细胞增殖

和抗体分泌等。通过体外细胞培养证明,青蒿素对 Co-nA 诱导的小鼠 T 细胞增殖及 DTH 反应具有明显的抑制作用;影响 Th1/Th2 免疫失衡,促使 Th1 型免疫应答向 Th2 型转变;促进抑制性因子 TGF- β 1 产生以及下调 p38 MAPK 信号^[17]。蒿甲醚在 G0/G1 期影响了细胞周期蛋白 cyclinD3、周期蛋白依赖性蛋白激酶 (CDK) 6 和 CDK 抑制蛋白 (CDKI) p27kip 的表达,从而阻止 T 细胞进入细胞分裂周期,通过 G1/S 期^[18]。

2.2 动物实验 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、实验性自身免疫性肌炎模型、小鼠全身性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^[19]。体内研究中观察到,经过结构改造后合成的新型青蒿素衍生物的生物活性和生物利用度大幅提高,口服低剂量新型水溶性青蒿素衍生物 (5mg/kg) 能明显抑制 T 细胞介导的小鼠迟发超敏反应^[20]。Yang 等^[21] 在细胞水平的研究中发现,青蒿素和青蒿素衍生物在不造成细胞毒性的剂量下,能较好地抑制 T 细胞丝裂原刀豆素 A (ConA) 诱导的小鼠脾脏淋巴细胞的增殖。人们还进行人瘢痕成纤维细胞体外培养,观察并分析了其对增殖性瘢痕成纤维细胞的增殖活力及胶原合成功能的影响,结果表明,青蒿素可呈剂量和时间依赖性地抑制成纤维细胞的增殖,并明显降低细胞外胶原量^[22]。单用青蒿素能够抑制肝癌细胞的生长但是作用较弱,对肿瘤细胞的促凋亡作用也比较弱;而联合铁剂用药作用更强,抑瘤率有所提高,促凋亡作用也有明显的增强。杨四句等应用细胞培养及分子杂交技术研究发现双氢青蒿素能够明显促进 Con A 诱导的小鼠脾细胞增殖,促进小鼠脾细胞以及 T 细胞株 LBRM 产生 IL-2 及其 mRNA 表达^[23]。叶燕霞等^[24] 研究发现双氢青蒿素对 Con A 诱导的小鼠 T 细胞增殖有明显的抑制作用,为将其开发成免疫抑制药物提供了实验依据。高剂量的蒿甲醚 (20mg/kg) 及双氢青蒿素 (25mg/kg) 均对博莱霉素所致的小鼠硬皮病有预防性治疗作用,可减少皮肤厚度和胶原含量,且蒿甲醚作用优于双氢青蒿素^[25]。

2.3 临床应用 除抗疟作用之外,双氢青蒿素还具有良好的免疫调节作用,有文献报道双氢青蒿素能有效治疗红斑狼疮、关节炎等自身免疫性疾病^[26,27]。韦嵩等^[28] 用青蒿琥酯粉针剂静脉注射治疗 RA 患者,60mg, 1 次/d, 治疗 10d 后,停药 5d 再继续静脉注射治疗,对照组口服或静脉注射甲氨蝶呤 (MTX) 10 ~ 15mg, 1 次/wk, 疗程 3mo, 曾服用非甾体类抗炎药物或激素治疗者,均在第 1mo 后减量至停药。结果发现,青蒿琥酯治疗 RA 的疗效与 MTX 相近,与 MTX 相比能较快改善关节红肿热痛症状,治疗过程偶有口眼干、便秘、心慌等药物反应,经中药调理后可缓解,无需停药,不良反应较 MTX 轻。崔向军等^[29] 治疗 87 例活动性 RA 患者,均以泼尼松片加甲氨蝶呤为基础治疗,治疗组以基础治疗加口服青蒿琥酯片 200mg, 1 次/d, 对照组以基础治疗加口服硫酸羟氯喹片 200mg, 1 次/d。发现两组起效时间及复发次数无显著差异,症状、各项临床指标得到了较好的恢复,与对照组比较疗效相当,不良反应较轻,说明青蒿琥酯对 RA 的治疗作用与羟氯喹相同。

3 青蒿素及其衍生物对葡萄膜炎免疫治疗的可能性及前景分析

青蒿为菊科植物黄花蒿的干燥地上部分,主要含有

青蒿素、青蒿甲素、青蒿丙素、黄酮、香豆素和挥发油等成分,具有清热解毒、除蒸、截疟等功效^[30]。临床和实验室的研究中发现青蒿素及其衍生物除具有抗疟作用以外,同时具有优良的免疫抑制活性,它们对各类红斑狼疮、皮炎及光敏性皮肤病和关节炎均具有一定疗效。经过结构改造后得到一些新型青蒿素衍生物,其免疫抑制活性有很大提高。青蒿素衍生物具有多重的免疫抑制机制,主要能够通过抑制T细胞激活和分裂、B细胞增殖和抗体分泌、APC抗原提呈,以及阻断炎症相关信号通路NF2κB活化而发挥其抗炎免疫抑制作用。抗疟作用之外,双氢青蒿素还具有良好的免疫调节作用,有文献报道双氢青蒿素能有效治疗红斑狼疮、关节炎等自身免疫性疾病^[26,27]。传统的免疫抑制剂在器官移植和自身免疫性疾病等方面发挥着重要作用,但这些药物具有毒副作用大、选择性不强等缺点,限制了其在临床上的广泛应用。激素治疗副作用大,且易复发并慢性化,长期应用激素易引起全身和局部的副作用,还容易产生依赖性。例如糖皮质激素可破坏机体自身防御系统而影响清除病毒感染的能力,可促进角膜表面的病毒向角膜深层潜入,并加强胶原酶的活性,加快角膜基质的溶解,使溃疡恶化^[31]。滥用误用激素还可能会造成股骨头坏死,甚至个别患者引起精神分裂症状;另外,糖皮质激素反复结膜下注射还易引起眼压升高和白内障^[32]。而中药免疫抑制剂具有毒副作用小、药理作用广泛等特点,因此从天然药物中寻找提取高效低毒的免疫抑制剂已成为制药界的热点。综合上述实验及理论的证实,青蒿素及其衍生物的免疫抑制作用对葡萄膜炎免疫治疗是可行的,可以应用到日常临床治疗中。

参考文献

- 1 杨培增. 葡萄膜炎的研究进展. 中华眼科杂志 2005;41(12):1149-1152
- 2 Li ZQ, Liu BY, Arvydas M, et al. Gene expression profiling in autoimmune non-infectious uveitis disease. *J Immunol* 2008;181(7):5147-5157
- 3 Chang JH, Hampartzoumian T, Everett B, et al. Changes in Toll-like receptor (TLR)-2 and TLR4 expression and function but not polymorphisms are associated with acute anterior uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(4):1711-1717
- 4 Rallabhandi P, Bell J, Boukhalova MS. Analysis of TLR4 polymorphic variants: new insights into TLR4/MD-2/CD14 stoichiometry, structure, and signaling. *J Immunol* 2006;177(1):322-332
- 5 Commodaro AG, Peron JP, Genre J, et al. IL-10 and TGF-beta immunoregulatory cytokines rather than natural regulatory T cells are associated with the resolution phase of Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) syndrome. *Scand J Immunol* 2010;72(1):31-37
- 6 Yoshimiura T, Sonoda KH, Ohguro N, et al. Involvement of Th17 cells and the effect of anti-IL-6 therapy in autoimmune uveitis. *Rheumatology (Oxford)* 2009;48(4):347-354
- 7 唐红,徐皓,刘娟. 葡萄膜炎患者外周血单个核细胞分泌细胞因子的研究. 国际眼科杂志 2011;11(5):814-816
- 8 Amarantunge BC, Camuglia JE. Syphilitic uveitis: a review of clinical manifestations and treatment outcomes of syphilitic uveitis in human immunodeficiency virus-positive and negative patients. *Clin Exper Ophthalmol* 2010;38(6):68-74
- 9 Nakanishi Y, Lu B, Gerard C, et al. CD8+T lymphocyte mobilization

to virus-infected tissue requires CD4 + T-cell help. *Nature* 2009;462(5):510-513

- 10 Li Y, Wu YL. An over four millennium story behind qinghao-su (artemisinin): a fantastic antimalarial drug from a traditional Chinese herb. *Curr Med Chem* 2003;10(4):2197-2230
- 11 王峻霞,唐炜,左建平. 青蒿素类衍生物抗炎免疫抑制活性研究进展. 国际药学研究杂志 2007;34(5):336-340
- 12 He Y, Fan J, Lin H, et al. The anti-malaria agent artesunate inhibits expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1 alpha in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte. *Rheumatol Int* 2011;31(1):53-60
- 13 Praygod G, de Frey A, Eisenhut M. Artemisinin derivatives versus quinine in treating severe malaria in children: a systematic review. *Malar J* 2008;7(1):210
- 14 郭进强,李莉,万为人,等. 青蒿琥酯抗中暑内毒素血症的机制探讨. 南方医科大学学报 2008;28(7):1290-1291
- 15 唐红婕. 青蒿素类药物临床应用研究进展. 华北煤炭医学院学报 2008;10(3):309-310
- 16 Wang JX, Tang W, Shi LP, et al. Investigation of the immunosuppressive activity of artemether on T-cell activation and proliferation. *Br J Pharmacol* 2007;150(5):652-661
- 17 李覃,陈虹,梅昕,等. 青蒿素的免疫抑制作用及其调控机制研究. 中国药理学通报 2011;27(6):848-854
- 18 Zhou WL, Wu JM, Wu QL, et al. A novel artemisinin derivatives, 3-(12-βartemisininoxy) phenoxy succinic acid (SM735), mediates immunosuppressive effects *in vitro* and *in vivo*. *Acta Pharm Acol Sin* 2005;26(11):1352-1358
- 19 曾娅莉. 青蒿素及衍生物对迟发性变态反应的免疫调节研究进展. 检验医学与临床 2008;5(12):742-743
- 20 Wang JX, Tang W, Yang ZS, et al. Suppressive effect of a novel water-soluble artemisinin derivative SM905 on T cell activation and proliferation *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Pharmacol* 2007;564(1-3):211-218
- 21 Yang ZS, Zhou WL, Sui Y, et al. Synthesis and immunosuppressive activity of new artemisinin derivatives. 1. [12 (βox)-dihydroartemisininoxy] phen(ox)yl aliphatic acids and esters. *J Med Chem* 2005;48(14):4608-4617
- 22 冯登超,贺光照,江川. 二氢青蒿素抑制兔耳廓痕增生的实验研究. 中国美容医学 2008;17(3):380-382
- 23 相丽欣. 双氢青蒿素研究进展. 广西轻工业 2010;136(3):7-8
- 24 叶燕霞,曾耀英,黄秀艳. 双氢青蒿素对小鼠T细胞的免疫抑制作用. 中国病理生理杂志 2010;26(3):417-423
- 25 马捷,陈丽华,李卫东,等. 蒿甲醚、双氢青蒿素对小鼠硬皮病模型的影响. 中国中药杂志 2009;34(2):204-207
- 26 董岩君,李卫东,屠呦呦,等. 双氢青蒿素对BXSB狼疮小鼠自身抗体产生、TNFα分泌及狼疮性肾炎病理改变的影响. 中国中西医结合杂志 2006;23(3):676-679
- 27 易剑锋,吕爱平. 雷公藤甲素与双氢青蒿素配伍对大鼠佐剂性关节炎的免疫学研究. 江西中医学院学报 2008;12(6):49-51
- 28 韦嵩,徐谷根. 青蒿琥酯治疗类风湿关节炎临床观察. 山西医药杂志 2008;37(5):457-458
- 29 崔向军,王燕燕,付军霞,等. 青蒿琥酯治疗类风湿关节炎临床观察. 中国医院药学杂志 2007;27(5):645-646
- 30 国家药典委员会. 中国药典. 一部. 化学工业出版社 2005:113
- 31 袁慧敏. 合理应用糖皮质激素治疗角膜葡萄膜炎. 国际眼科杂志 2010;10(8):1535-1536
- 32 付宇鹏,朱玉萍. 糖皮质激素及抗生素治疗葡萄膜炎的临床分析. 局解手术学杂志 2007;16(1):35