

中药影响实验性自身免疫性脑脊髓炎 CD4⁺T 细胞亚群分化的研究进展

刘楠, 李纳, 马晓华, 朱琳, 时程程*

郑州大学第一附属医院药学部, 河南 郑州 450000

摘要: 实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 是由 CD4⁺T 细胞介导的中枢神经系统脱髓鞘性疾病, 是国际公认研究多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 的动物模型。CD4⁺T 细胞作为 EAE 模型的主要免疫应答细胞, 存在多个亚群, 可分泌多种细胞因子, 参与病情进展。CD4⁺T 细胞增殖分化及功能紊乱与 EAE 发病机制密切相关。目前临床尚无治疗 MS 的有效药物, 多以对症应用皮质类固醇激素为主, 但不良反应严重, 且易产生药物依赖。近年来中药因作用温和、药物安全性较高、成本低、耐受性好等优点逐渐走进大众视野, 针对中药对 EAE 中 CD4⁺T 细胞亚群分化的影响展开论述, 为临床用药提供更多理论基础。

关键词: 实验性自身免疫性脑脊髓炎; 多发性硬化; CD4⁺T 细胞亚群; 中药; 雷公藤; 苦参素; 冬凌草甲素; 姜酚; 左归丸; 六味地黄丸

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)04-1177-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.04.032

Research progress on effect of traditional Chinese medicine on differentiation of CD4⁺T cell subsets in experimental autoimmune encephalomyelitis

LIU Nan, LI Na, MA Xiao-hua, ZHU Lin, SHI Cheng-cheng

Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) is a demyelinating disease of the central nervous system mediated by CD4⁺T cells. It is an internationally recognized animal model of multiple sclerosis (MS). As the main immune response cell of EAE model, CD4⁺T cells have many subsets, secrete many kinds of cytokines, and involve in disease progression. CD4⁺T cell proliferation and differentiation and dysfunction are closely related to the pathogenesis of EAE. At present, there is no effective drug for MS in clinic, and most of the drugs are symptomatic application of corticosteroids, however, they have serious side effects and are prone to drug dependence. In recent years, Chinese medicine has gradually entered the public's field of vision because of its mild action, high drug safety, low cost, and good tolerance. The effects of traditional Chinese medicine on differentiation of CD4⁺T cell subsets in EAE are analyzed in this article, in order to provide more theoretical basis for clinical use.

Key words: experimental autoimmune encephalomyelitis; multiple sclerosis; CD4⁺T cell subsets; traditional Chinese medicine; *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; oxymatrine; oridonin; gingerol; Zuogui Pills; Liuwei Dihuang Pills

多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 是一种中枢神经系统慢性自身免疫性疾病, 临床主要表现为运动障碍、感觉和精神异常等^[1]。据统计, 全球发病人群中女性患者比例明显高于男性, 且以成年人发病为主, 随年龄升高病情加重, 最终导致残疾或瘫痪, 对患者身心健康造成严重影响^[2]。实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis,

EAE) 病理学特征与 MS 高度相似, 故用作研究 MS 发病机制的理想实验模型^[3]。目前, 关于 MS 的发病机制尚未完全明确, 但已有研究证实 CD4⁺T 细胞亚群分化通过调节机体免疫炎症反应, 在 EAE 疾病进展过程中起重要作用^[4]。因此, 探讨 CD4⁺T 细胞亚群分化在 EAE 治疗中的变化对改善患者预后具有重要意义。中药具有药性温和、成本较低, 且不

收稿日期: 2020-02-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31570357); 河南省高等学校重点科研项目计划 (17A310011)

作者简介: 刘楠, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为免疫药理。Tel: (0371)66913047 E-mail: ln_snow@163.com

*通信作者: 时程程, 女, 博士, 主管药师, 研究方向为免疫药理。Tel: (0371)66913047 E-mail: 530693421@qq.com

不良反应少的优势,易被患者接受。近年来,随着人们对中医认识的逐步加深及中药应用的推广,多种中药被用于 EAE 的治疗,本文主要对近年来中药治疗 EAE 过程中 CD4⁺T 细胞亚群分化进行总结,为临床中药治疗 MS 提供依据。

1 MS

1.1 中医学致病机制

MS 发病机制复杂,目前仍未完全阐明。MS 属中医“类中风风懿”“类中风风痙”等范畴^[5]。中医认为本病病因主要为肾脏先天禀赋不足,而后天外感淫邪、内伤劳倦,继而致脾胃肝肾亏虚,内生风湿火痰瘀,由此可知,本病为本虚标实之证^[6]。现代医学根据 MS 的临床表现将其分为发作期和缓解期,中医学根据辨证施治的原则,对 MS 不同时期采用不同治疗方法,发作期以邪实为主,应注重祛邪,缓解期可见内虚,应以调和五脏六腑,补肾益髓为主,标本兼治,内外调和共同施治^[7]。

1.2 中药治疗作用机制

目前,临床中尚无针对性药物治愈 MS,基于中医辨证论治理论,中药主要以清内毒、消损伤、补机体为原则进行治疗。从中医角度分析 MS 的发病机制及治疗方法,可以为目前临床治疗提供更广阔的思路。研究者通过 EAE 模型进行大量中药实验研究,结果发现部分中药治疗 EAE 可能与免疫调节、抑制炎症反应等有关^[8]。一方面,中药具有增强和抑制机体免疫反应的双重作用。研究显示,雷公藤、苦参等中药在一定剂量下可调节 T 淋巴细胞介导细胞免疫反应作用从而改善 EAE 症状,但对免疫器官损害作用轻,临床治疗更为安全^[9]。另一方面,中药具有显著的抑制炎症反应作用。研究显示,当归、麻黄、柴胡^[10]等中药可有效调节细胞黏附分子、炎症细胞因子的合成和分泌,可通过调节辅助性 T 淋巴细胞(Th)1/Th2 失衡,参与调节 MS 异常免疫应答,阻止 MS 炎症反应,减轻神经损伤。

1.3 MS 动物模型—EAE

目前,EAE 是研究 MS 发病机制最为理想的实验模型。EAE 诱导物经历多次改进,由最初的狂犬疫苗、兔脑混悬液等最终发展为单一致敏原,主要包括髓磷脂碱性蛋白、髓鞘蛋白脂蛋白、髓鞘相关糖蛋白和髓鞘少树突胶质细胞糖蛋白等^[11]。上述单一致敏原具有敏感性高、模型制备成功率高等优点,其中髓鞘少树突胶质细胞糖蛋白因具有高度免

疫原性,广泛用于复发性 EAE 的研究^[12]。EAE 常用动物模型包括 SD 和 Lewis 等大鼠品系,SJL/J 和 DBA/J 等小鼠品系。SD 大鼠来源广、制备简单,且成功率高、死亡率低,适合研究推广。Lewis 大鼠具有稳定性好、成功率高等优势,但该品系不易获得^[13]。SJL/J 和 DBA/J 小鼠品系对致敏原敏感性高,但造模成功率和潜伏期波动较大,在抗原准备时,辅助卡介苗、弗氏佐剂多次重复注射可提高制模成功率,且 EAE 模型稳定性相应提高^[14],可广泛推广。

1.4 EAE 与 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化

EAE 是由 CD4⁺T 淋巴细胞介导为主的自身免疫病,CD4⁺T 淋巴细胞中枢浸润是 EAE 典型病变特点。研究表明,树突状细胞、巨噬细胞、小胶质细胞表面主要组织相容性抗原复合物 II 可与 CD4⁺T 淋巴细胞受体结合,从而刺激 CD4⁺T 淋巴细胞活化,产生免疫效应分子及细胞因子,参与病情进展^[15]。

1.4.1 对 Th1/Th2 分化的调节 Th1/Th2 是 CD4⁺T 细胞分化出的辅助性 T 淋巴细胞亚群,主要介导 EAE 病程中 Th1 和 Th2 两种免疫反应类型。Th1 细胞主要分泌 γ -干扰素、白细胞介素(interleukin, IL)-12 和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α/β 等细胞因子,是介导 EAE 的主要免疫调节细胞^[16]。Th1 细胞分泌的细胞因子可促进 T 淋巴细胞向 Th1 分化,同时细胞因子间可相互作用,促进其他细胞因子分泌。Trinchieri 等^[17]认为 IL-12 的分泌可以启动免疫系统对机体自身发起攻击,诱发 EAE。Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5 和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 3 种细胞因子,可以负向调节免疫应答,从而抑制中枢神经系统免疫反应。因此,Th1 与 Th2 细胞间存在相互转化和拮抗的作用,两者间平衡紊乱共同促进 EAE 的发生和发展。

1.4.2 对 Th17 分化的调节 Th17 是独立于经典辅助性 T 淋巴细胞亚群分化的新 T 淋巴细胞。Th17 主要通过分泌细胞因子 IL-17,或直接合成 IL-6 诱导其他促炎因子的形成,参与 EAE 病情进展^[18]。临床研究显示,MS 患者脑组织中 IL-17 mRNA 表达明显增加,并且在中枢神经系统损伤区域中可以分离出 Th17 细胞,IL-17 可能是导致 EAE 发病的关键因子^[19]。Komiyama 等^[20]将缺失 IL-17 的 CD4⁺T 淋巴细胞作为抗原转移至小鼠体内,结果发现不能诱导 EAE 病理模型;此外,将 Th17 细胞直接作为抗

原注入小鼠体内,相比注入 Th1 细胞后得到 EAE 模型更加严重。Ghoreschi 等^[21]研究发现 TGF- β 和 IL-6 均可介导 Th17 分化,此外 Th1 细胞分泌的 IL-23 对 Th17 增殖起关键作用。另有研究显示,IL-23 可以促进 Th17 产生 IL-17,使用 IL-23 p19 抗体可以降低 IL-17 水平,从而缓解 EAE 病情发展^[22]。有报道显示,TGF- β 可以诱导 CD4⁺T 细胞分化成调节性 T 细胞,IL-6 和 IL-21 介导调节性 T 细胞转化成 Th17 细胞,造成调节性 T 细胞与 Th17 细胞失衡,加重免疫系统炎症反应,导致 EAE 病情加重^[23]。近年来越来越多的研究发现,Th17 在 EAE 中扮演重要角色,随着研究的深入,Th17 的作用机制将会被进一步揭示。

1.4.3 对 Th22 分化的调节 Th22 属于一种新近发现的辅助性 CD4⁺T 淋巴细胞亚群,主要通过分泌 IL-22、IL-13, IL26 和 TNF- α 等炎症因子参与 EAE 进程^[24]。研究结果表明,IL-22 在急性 EAE 模型中显著增加,据此推测 Th22 和 IL-22 在 EAE 进程中起重要作用^[25]。针对 EAE 模型的基因检测发现,IL-22 受体 R1、R2 均可介导中枢神经系统免疫反应,且可通过影响 IL-22 的分泌参与 EAE 的进展^[26]。临床研究显示,复发 MS 患者外周血 Th22 占比及 IL-22 均显著升高^[27]。随着研究的不断深入,Th22 及调节性 T 细胞亚群在 EAE 发病机制及过程中的作用逐步显现,为临床治疗提供更加充分的理论基础。

1.4.4 对 T_{eff}/T_{reg} 分化的调节 调节性 T 淋巴细胞(regulatory T cell, T_{reg})和效应性 T 淋巴细胞(effective T cell, T_{eff})是近年来新发现的除 Th1/Th2 外的新的 T 淋巴细胞亚群平衡系统^[28]。T_{reg} 在 EAE 进程中的外周免疫耐受中起关键调控作用,可抑制 T_{eff} 引起的过度免疫反应,避免组织损伤。Villegas 等^[29]研究显示,T_{eff} 与 T_{reg} 间维持动态平衡是机体外周免疫平衡的关键,二者平衡打破可能是导致 EAE 发病的重要因素。

2 单味中药及中药单体治疗 EAE 中 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化

2.1 雷公藤

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 也称黄藤根,具有活血化瘀、清热祛湿、解毒消肿等功效。雷公藤多苷、雷公藤内酯醇等是从雷公藤根部提取的主要活性成分^[30],主要来源于卫矛科雷公藤属植物,化学结构见图 1。近年研究表明,雷公藤多苷可通过调节免疫细胞参与机体炎症反应^[31]。Zhao 等^[32]

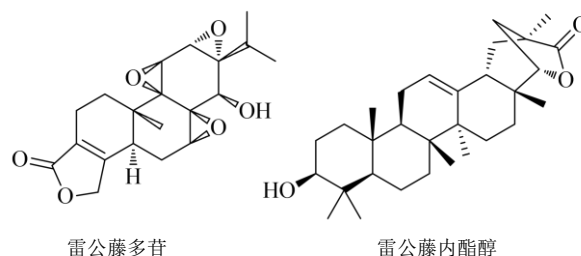


图 1 雷公藤多苷和雷公藤内酯醇的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of polyglycosides and triptolide of *T. wilfordii*

研究发现雷公藤多苷可以通过抑制信号转导与转录因子(signal transducer and activator of transcription, STAT) 3 而抑制 Th17 分泌 IL-17 水平,从而抑制机体免疫反应。张霞等^[33]发现,雷公藤内酯醇可以抑制 EAE 小鼠病灶中 Th1 和 Th17 细胞浸润,增加 T_{reg} 细胞占比调节 EAE 免疫反应,陈鸣等^[34]得出相似结论。周发明等^[35]研究表明,雷公藤多苷可通过抑制 β 淀粉样前体蛋白、IL-17 等炎症因子,减轻 EAE 大鼠轴索损伤,进而延缓 EAE 病变进程。目前临床中关于雷公藤或其有效成分对机体特异性和非特异性免疫疾病具有较好的调节作用,主要通过调节 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化及细胞因子分泌发挥作用,但作用的基因靶点不明确。雷公藤内的多种中药活性成分在治疗 EAE 过程中扮演类激素角色,但与临床中常用的糖皮质激素不同,具有不良反应少、靶点丰富等优势,为 MS 的治疗提供更多可能。

2.2 苦参素

苦参素是从豆科槐属植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 全草、根及种子中提取的活性生活碱,具有提高白细胞水平、抑制机体变态反应等多种作用,化学结构见图 2。近年来研究发现,苦参素具有调节 EAE 大鼠机体免疫炎症反应作用,可有效防治 EAE,延迟 EAE 发病时间,可有效防治 EAE,延迟 EAE 发病时间,可能通过抑制脊髓中 JAK/STAT3 信号通路激活,从而减轻炎症反应有关^[36]。郭小彬等^[37]观察苦参素对 EAE 的防治作用发现,苦参素可通过调控血清中多种炎症细胞因子 IL-4、INF- γ ,减轻 EAE 发病程度及发病症状。既往研究显示,IL-4、INF- γ 在调控 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化过程中具有重要的调控作用^[38]。由此可推测,苦参素可能通过调控炎症细胞因子,进一步调节 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化,参与 EAE 病情进展,但具体调控机制仍需进一步研究证实。

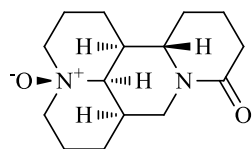


图2 苦参素的化学结构

Fig. 2 Chemical structure of oxymatrine

2.3 冬凌草甲素

冬凌草甲素是唇形科香茶菜属多年生草本植物冬凌草 *Isodon rubescens* (Hemsl.) Hara. 全草中分离出的四环二萜类化合物, 化学结构见图3。药理学研究表明, 冬凌草甲素具有显著抗肿瘤、抗炎等作用, 通过生物信息大数据分析, 目前已确认包括促分裂原活化蛋白激酶激酶1、脑胶质瘤中转化生长因子 β 2、成纤维生长因子受体1等多达105个潜在活性靶点及PI3K/AKT、过氧化物酶体增殖物激活受体等多条信号通路^[39]。郑配国等^[40]研究发现, 在EAE小鼠发病前给予冬凌草甲素可有效减轻小鼠脊髓病灶炎性细胞浸润, 且能有效抑制脊髓少突胶质细胞反应性T淋巴细胞的增殖和分化, 从而减少 $\text{INF-}\gamma^+\text{CD4}^+$ T淋巴细胞及 $\text{IL-17}^+\text{CD4}^+$ T淋巴细胞, 发挥预防EAE的功能。 $\text{INF-}\gamma^+\text{CD4}^+$ T淋巴细胞及 $\text{IL-17}^+\text{CD4}^+$ T淋巴细胞是机体重要的辅助性T淋巴细胞, 因此可推测冬凌草甲素可能通过调节T淋巴细胞亚群中Th1/Th2平衡, 发挥EAE免疫调控作用。

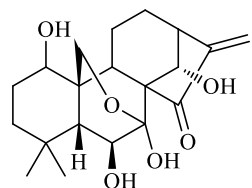


图3 冬凌草甲素的化学结构

Fig. 3 Chemical structure of rubescensine A

2.4 姜酚

生姜 *Zingiber officinale* Roscoe 具有散寒发汗、止吐暖胃等功效, 姜酚是生姜根茎中的有效活性成分^[41], 化学结构见图4。姜酚除具有抗肿瘤、抗炎、保肝利胆等功效外, 还具有抑制中枢神经的功效。张南炆等^[42]研究显示, 6-姜酚可有效抑制脊髓少突胶质细胞糖蛋白诱导的缓解型EAE模型小鼠免疫应答反应, 可有效抑制T淋巴细胞浸润病灶及 $\text{TNF-}\alpha$ 、 IL-6 等细胞因子分泌, 从而有效缓解EAE的进展。姜酚可通过调节 CD4^+ T淋巴细胞亚群分化而保护EAE, 但姜酚分离较为困难, 且化学性质仍不稳定,

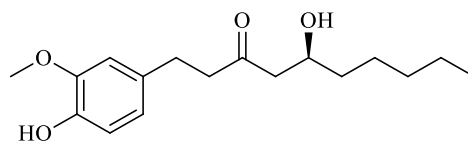


图4 姜酚的化学结构

Fig. 4 Chemical structure of gingerol

在进一步研究中亟需寻找有效方法降低其分离难度、提高化学稳定性, 并进一步明确其作用靶点, 以提高其在EAE治疗中的应用价值。

2.5 其他中药或中药单体

刘媚等^[43]研究表明, 人参皂苷Rd具有调节 CD4^+ T细胞亚群中Tregs与Th17分化作用, 通过上调Tregs占比及IL-10水平、下调Th17占比及IL-17水平, 而缓解EAE小鼠腰髓病理学变化, 其调控机制可能与叉头型基因p3/维甲酸相关核受体 γ /STAT3信号通路的抑制有关。王东等^[44]应用白藜芦醇联合间充质干细胞治疗EAE小鼠发现, 与单独应用间充质干细胞相比, 联合用药可有效提高Th1型细胞因子 $\text{INF-}\gamma$ 、 $\text{TNF-}\alpha$ 水平, 降低Th2型细胞因子IL-4、IL-10水平, 通过调控Th1/Th2平衡抑制EAE脊髓炎症反应。李世举等^[45]研究显示, 白芍总苷可通过下调IL-23、IL-17水平, 抑制 CD4^+ T淋巴细胞向Th17细胞分化, 减轻EAE病情。上述研究均证实, 中药或中药单体可通过调节 CD4^+ T淋巴细胞亚群分化, 从而调节EAE免疫炎症反应, 对缓解病情进展起重要调节作用。

3 中药复方治疗EAE中 CD4^+ T淋巴细胞亚群分化

3.1 左归丸和右归丸

温阳补肾方以左归丸(补肾)和右归丸(温阳)为代表。左归丸方由熟地、山药、山茱萸、枸杞子等8味中药组成, 是在六味地黄丸基础上化裁而成, 主要用于遗精盗汗、腰膝酸软等肾阴不足、精血亏虚者。右归丸由熟地、山茱萸、山药、当归、肉桂等10味中药组成, 主要用于神疲乏力、畏寒肢冷、阳痿等肾阳亏虚者。中医学认为, EAE发病机制与肝肾有关, 在EAE病理过程中使用左归丸和右归丸可以显示良好疗效。周莉等^[46]研究显示, 左归丸可在EAE急性期(免疫诱导前15d)下调Th1细胞因子, 抑制免疫炎症反应, 但缓解期可以促进Th1免疫应答反应, 促进机体恢复; 左归丸和右归丸在EAE不同时期均可通过不同途径纠正Th1/Th2平衡, 促进疾病的恢复。樊永平等^[47]研究发现, 左归

丸和右归丸可有效降低 EAE 大鼠脑和脊髓组织中 CD4⁺T 淋巴细胞水平,通过降低 CD4⁺/CD8⁺比值发挥治疗 EAE 的作用,由此可知左归丸和右归丸对 CD4⁺T 淋巴细胞增殖、分化具有调控作用。滋阴补阳是中医追求阴阳调和的关键,通过左归丸和右归丸通过补肾温阳调节机体阴阳平衡,从而在研究 EAE 疾病进展和治病机理中起重要作用。

3.2 六味地黄丸和金匱肾气丸

六味地黄丸为经典补肾方,方含熟地、山药、山茱萸、泽泻、牡丹皮和茯苓 6 味中药,临床治病谱广,主要为慢性病引起的肝肾不足、肾阴亏虚之证。金匱肾气丸是在其基础上加味附子、肉桂制成,主要用于治疗肾气虚弱引起的虚劳、痰饮、消渴等病证,近年来随着中医临床广泛研究,临床适用范围进一步扩大,设计内分泌、免疫、泌尿等多个系统疾病。袁辉等^[48]对 MS 缓解期治疗经验进行总结,根据中医临床辨证发现,六味地黄丸治疗肾阴亏型 MS 效果满意,而金匱肾气丸治疗肾阳不足型 MS 疗效满意,辨证施治副作用少。刘妍等^[49]研究发现,六味地黄丸和金匱肾气丸对 EAE 大鼠 Th1、Th17 及 Treg 细胞紊乱均有调节作用,通过调控 T 淋巴细胞分泌的细胞因子 TNF- α 、TGF- β 和 IL-17 水平改善 EAE 病情,且调控作用优于醋酸泼尼松龙。MS 患者随着年龄的增长肾气渐虚,林吉祥^[50]研究发现,金匱肾气丸对老年人群肾气虚患者具有良好疗效,且能提高临床疗效。六味地黄丸和金匱肾气丸可通过调节机体 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化,从而改调节机体免疫炎症反应,最终改善 EAE 症状。

3.3 益肾达络饮和补肾固髓方

益肾达络饮方由熟地、鹿角胶、石菖蒲、栀子和生甘草等中药组成,补肾固髓方由淫羊藿、肉苁蓉、仙茅、圣地、制首乌、郁金和丹参组成,2 种复方均是根据 MS 毒损脉络、戕害脑髓的病机制定而成。吴彦青等^[51]研究表明,益肾达络饮可有效改善 EAE 小鼠神经功能损伤,其调控机制为通过干预 CD4⁺T 淋巴细胞水平,从而改善 EAE 中枢神经系统免疫炎症反应。补肾固髓方注重调节 MS 患者肝肾阴虚、痰瘀阻络的发病机制进行治疗,师一民等^[52]研究证实,补肾固髓方及其拆方均具有减轻 EAE 大鼠炎症细胞浸润及轴突损伤的作用,且尤以补肾固髓方减轻作用最为显著,其作用机制可能与下调脑脊髓中微管相关蛋白 p-Tau,上调 β -tubulin 蛋白有关。樊永平等^[53]研究显示,补肾益髓胶囊可通过抑

制视神经脊髓炎缓解期患者血清 IL-6 表达水平。既往研究表明,IL-6 可负调控 Th1 细胞分化,参与 EAE 进展,由此可以推测补肾益髓方可能是通过调节 EAE 缓解期 Th2 向 Th1 分化而抑制中枢神经炎症反应的。益肾达络饮和补肾固髓方中均含有多味益肾填髓中药,该类药物含有丰富类激素,治疗 EAE 的机制可能与调节 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化失衡有关。

3.4 二黄方

二黄方主要由生地、熟地、制首乌、水蛭、浙贝母等中药组成,针对 MS 肾阴亏虚、痰阻脉络之病机进行治疗,全方滋阴补肾、活血通络,清热化痰,改善 MS 症状。具有补肾填精、活血化瘀的功效。研究发现,二黄方可提高 EAE 大鼠血清 IL-4 水平,通过调整 CD4⁺T 细胞亚群 Th1/Th2 平衡达到改善 EAE 中枢神经功能损伤的作用^[54]。目前多项研究均证实 Th1/Th2 偏移导致参与免疫应答的细胞因子失衡,加重 EAE 疾病发展,二黄方可能通过纠正这种偏移减轻过度免疫应答,从而达到治疗效果。

单味中药、中药单体和中药复方参与 T 淋巴细胞亚群分化情况见表 1。

4 结语

MS 病情易反复,发病机制复杂,尚无有效药

表 1 单味药和中药复方参与 T 淋巴细胞亚群分化情况
Table 1 Single medicine and traditional Chinese medicine compound involved in differentiation of T lymphocyte subsets

中药	参与 CD4 ⁺ T 淋巴细胞亚群分化
单味中药及中药单体	
雷公藤	Th1/Th2、Th17
苦参素	Th1/Th2
冬凌草甲素	Th1/Th2、Th17
姜酚	Th1/Th2
人参皂苷 Rd	Tregs、Th17
白藜芦醇	Th1/Th2
白芍总苷	Th17
中药复方	
左归丸和右归丸	Th1/Th2
六味地黄丸和金匱肾气丸	Th1、Th17、Treg
益肾达络饮和补肾固髓方	Th1/Th2
二黄方	Th1/Th2

物可以根治,临床所有治疗方法仅可以缓解病情,无法彻底治愈。类固醇激素、干扰素、免疫抑制剂等是目前治疗 MS 的主要手段,但存在不良反应大、药物依赖、适用范围受限、费用昂贵等缺点^[55]。近年来随着中药治疗 EAE 研究的不断深入,发现中药在调节机体免疫炎症反应、减轻激素药物不良反应方面具有较大优势。中药治疗 EAE 过程中,可通过调节机体 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化,改变 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分泌的炎症因子水平,抑制机体异常免疫炎症反应,从而改善 EAE 症状。但目前关于中药调节 EAE CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化的研究仍存在一些问题,如 EAE 实验动物的多样性对所得结论的可靠性是否有影响,中药对 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化影响的同时是否能够影响其他类型淋巴细胞分化,对体液免疫是否也有影响等,此外,对 EAE 脑脊液、体液中 CD4⁺T 淋巴细胞亚群及其细胞因子的检测手段仍不统一,可能对结果可靠性产生影响。因此,今后应选择合适实验动物,应用成熟稳定检测手段,对中药影响 CD4⁺T 淋巴细胞亚群分化进行更为科学,可靠的分析,为临床应用中药防治 MS 提供实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fox R J, Coffey C S, Conwit R, *et al.* Phase 2 trial of ibudilast in progressive multiple sclerosis [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(9): 846-855.
- [2] Amezcua L, Rivas E, Joseph S, *et al.* Multiple sclerosis mortality by race/ethnicity, age, sex, and time period in the United States, 1999-2015 [J]. *Neuroepidemiology*, 2018, 50(1/2): 35-40.
- [3] Hundehage P, Fernandez-Orth J, Römer P, *et al.* Targeting voltage-dependent calcium channels with pregabalin exerts a direct neuroprotective effect in an animal model of multiple sclerosis [J]. *Neurosignals*, 2018, 26(1): 77-93.
- [4] Høglund R A, Lossius A, Johansen J N, *et al.* In silico prediction analysis of idiotope-driven T-B cell collaboration in multiple sclerosis [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1255.
- [5] 李中, 周德生, 周颖琛, 等. 多发性硬化患者特殊治疗后中医证候学变化的横断面调查研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2015, 35(4): 44-47.
- [6] 许浩游, 李淑梅, 李惠珍, 等. 岭南地区多发性硬化患者证候演变规律与湿邪致病特点研究 [J]. 国际中医中药杂志, 2018, 40(11): 1011-1015.
- [7] 樊永平, 王苏. 中医辨证治疗对复发缓解型多发性硬化患者复发率的影响 [J]. 中医杂志, 2015, 56(8): 683-685.
- [8] 施凌鹤, 庞浩龙, 贡联兵. 多发性硬化中成药的合理应用 [J]. 人民军医, 2015, 58(2): 222-223.
- [9] 朱振国, 黄艳君, 张元涛, 等. 黄连素对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠神经保护作用的实验研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(1): 59-62.
- [10] 张奇, 林成仁, 李涛. 柴胡对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠炎症的干预作用 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(6): 760-763.
- [11] Ntountaniotis D, Vanioti M, Kordopati G G, *et al.* A combined NMR and molecular dynamics simulation study to determine the conformational properties of rat/mouse 35-55 myelin oligodendrocyte glycoprotein epitope implicated in the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2017, 35(7): 1559-1567.
- [12] Chevalier A C, Rosenberger T A. Increasing acetyl-CoA metabolism attenuates injury and alters spinal cord lipid content in mice subjected to experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neurochem*, 2017, 141(5): 721-737.
- [13] Bjelobaba I, Begovic-Kupresanin V, Pekovic S, *et al.* Animal models of multiple sclerosis: Focus on experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neuro Res*, 2018, 96(6): 1021-1042.
- [14] 王玉琳, 石天宇, 马宁, 等. 实验性自身免疫性脑脊髓炎模型的建立及要素选择 [J]. 黑龙江中医药, 2018, 47(4): 121-124.
- [15] Belikan P, Bühler U, Wolf C, *et al.* CCR7 on CD4⁺ T cells plays a crucial role in the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Immunol*, 2018, 200(8): 2554-2562.
- [16] Pennell L M, Fish E N. Interferon- β regulates dendritic cell activation and migration in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Immunology*, 2017, 152(3): 439-450.
- [17] Trinchieri G, Pflanz S, Kastelein R A. The IL-12 family of heterodimeric cytokines [J]. *Immunity*, 2003, 19(5): 641-644.
- [18] Liu R Q, Ma X F, Chen L, *et al.* MicroRNA-15b suppresses Th17 differentiation and is associated with pathogenesis of multiple sclerosis by Targeting O-GlcNAc transferase [J]. *J Immunol*, 2017, 198(7): 2626-2639.
- [19] Kleiweietfeld M, Manzel A, Titze J, *et al.* Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells [J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 518-522.
- [20] Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, *et al.* IL-17 plays an

- important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 566-573.
- [21] Ghoreschi K, Jesson M I, Li X, *et al*. Modulation of innate and adaptive immune responses by tofacitinib (CP-690, 550) [J]. *J Immunol*, 2011, 186(7): 4234-4243.
- [22] Chen Y. Anti-IL-23 therapy inhibits multiple inflammatory pathways and ameliorates autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(5): 1317-1326.
- [23] Morita K, Okamura T, Inoue M, *et al*. Egr2 and Egr3 in regulatory T cells cooperatively control systemic autoimmunity through Ltbp3-mediated TGF- β 3 production [J]. *PNAS*, 2016, 113(50): E8131-E8140.
- [24] Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, *et al*. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(8): 857-863.
- [25] Almolda B, Costa M, Montoya M, *et al*. Increase in Th17 and T-reg lymphocytes and decrease of IL22 correlate with the recovery phase of acute EAE in rat [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27473.
- [26] Beyeen A D, Adzemovic M Z, Öckinger J, *et al*. IL-22RA2 associates with multiple sclerosis and macrophage effector mechanisms in experimental neuroinflammation [J]. *J Immunol*, 2010, 185(11): 6883-6890.
- [27] Xu W, Li R, Dai Y Q, *et al*. IL-22 secreting CD4⁺ T cells in the patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis [J]. *J Neuroimmunol*, 2013, 261(1/2): 87-91.
- [28] Kim H J, Barnitz R A, Kreslavsky T, *et al*. Stable inhibitory activity of regulatory T cells requires the transcription factor Helios [J]. *Science*, 2015, 350(6258): 334-339.
- [29] Villegas J A, van Wassenhove J, Le Panse R, *et al*. An imbalance between regulatory T cells and T helper 17 cells in acetylcholine receptor-positive myasthenia gravis patients [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2018, 1413(1): 154-162.
- [30] 段亚萍, 骆骄阳, 豆小文, 等. 雷公藤药材真伪鉴别及质量评价研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(15): 3105-3114.
- [31] 巴鑫, 陈哲, 涂胜豪. 从表观遗传学角度看雷公藤治疗类风湿关节炎的研究进展 [J]. 中华风湿病学杂志, 2018, 22(11): 785-788.
- [32] Zhao J X, Di T T, Wang Y, *et al*. Multi-glycoside of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. ameliorates imiquimod-induced skin lesions through a STAT3-dependent mechanism involving the inhibition of Th17-mediated inflammatory responses [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(3): 747-757.
- [33] 张霞, 胡晓娟, 陈鸣, 等. 雷公藤内酯醇对自身反应性 T 细胞的作用机制研究 [J]. 现代免疫学, 2011, 31(3): 213-218.
- [34] 陈鸣, 孙权业, 张霞, 等. 雷公藤内酯醇治疗实验性自身免疫性脑脊髓炎的免疫调节机制研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(4): 337-341.
- [35] 周发明, 李小丽, 陈光辉. 雷公藤多甙对 EAE 大鼠脊髓 β -APP 和 IL-17 表达的影响 [J]. 卒中与神经疾病, 2014, 21(6): 323-326.
- [36] 张明亮, 刘方洲, 吕莹, 等. 苦参素对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠 JAK2/STAT3 表达的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(22): 1973-1976.
- [37] 郭小彬, 阚全程, 宋一帆, 等. 苦参素对大鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎的防治作用 [J]. 山东医药, 2010, 50(5): 30-31.
- [38] Ribeiro V R, Romao-Veiga M, Romagnoli G G, *et al*. Association between cytokine profile and transcription factors produced by T-cell subsets in early- and late-onset pre-eclampsia [J]. *Immunology*, 2017, 152(1): 163-173.
- [39] 刘伟, 张彦忠, 白素平. 基于反向分子对接和网络药理学确定冬凌草甲素抗肿瘤的潜在作用机制 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(17): 2148-2156.
- [40] 郑配国, 魏高辉, 符含笑, 等. 冬凌草甲素减轻实验性自身免疫性脑脊髓炎病变的免疫机制 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(8): 1089-1092.
- [41] 冉姗, 孙方方, 宋燕, 等. 基于苓甘五味姜辛汤研究干姜药对配伍对 4 种姜酚含量影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(9): 62-65.
- [42] 张南炆, 潘钰, 吴毓东, 等. 6-姜酚治疗实验性自身免疫性脑脊髓炎的免疫学机制 [J]. 昆明医科大学学报, 2018, 39(12): 23-27.
- [43] 刘媚, 黄绮玲, 马晓萌, 等. 人参皂甙 Rd 对 EAE 模型小鼠 Tregs/Th17 细胞失衡的调节作用研究 [J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(5): 507-514.
- [44] 王东, 庞晓璐, 王梁, 等. 间充质干细胞联合白藜芦醇对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠炎症的影响 [J]. 河北医科大学学报, 2017, 38(7): 745-749.
- [45] 李世举, 王艳旭, 邱建敏, 等. 白芍总苷对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠 IL-23/Th17 轴的影响 [J]. 神经疾病与精神卫生, 2015, 15(6): 589-592.
- [46] 周莉, 樊永平, 王蕾, 等. 左归丸与右归丸对 EAE 大鼠血浆 Th1/Th2 平衡的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7(11): 1304-1306.
- [47] 樊永平, 宋丽君, 叶明, 等. 左归丸和右归丸对自身免疫性脑脊髓炎大鼠中枢神经系统淋巴细胞亚群免疫组化表达的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(6): 44-47.
- [48] 裘辉, 张丽萍, 裘昌林. 裘昌林补肾熄风法治疗多发性硬化缓解期经验 [J]. 浙江中医药大学学报, 2016, 40(2): 90-95.

- [49] 刘妍, 张平, 李明, 等. 补肾方对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠 T 辅助细胞 1, 17 和调节性 T 细胞的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 116-120.
- [50] 林吉祥. 金匱肾气丸改善老年肾气虚证的临床观察 [J]. 湖南中医药大学学报, 2013, 33(12): 16.
- [51] 吴彦青, 高颖, 朱陵群, 等. 实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠中枢神经组织中 *CD4* mRNA 的变化及益肾达络饮对其的影响 [J]. 中国中医急症, 2012, 21(11): 1760-1762.
- [52] 师一民, 王永强, 安辰, 等. 补肾益髓方及其拆方对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠脑和脊髓中 p-Tau 和 Beta-tubulin 表达的影响 [J]. 世界中医药, 2016, 11(9): 1825-1830.
- [53] 樊永平, 王苏, 杨涛. 补肾益髓胶囊对视神经脊髓炎患者缓解期 BAFF、CXCL13 及 IL-6 的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2019, 14(6): 741-744.
- [54] Gao H, Dong Z, Gong X K, *et al.* Effects of various radiation doses on induced T-helper cell differentiation and related cytokine secretion [J]. *J Radiat Res*, 2018, 59(4): 395-403.
- [55] 樊永平, 刘秀贞, 王蕾, 等. 二黄方对 EAE 大鼠外周血 NK 细胞和细胞因子的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2007, 30(3): 165-168.
- [56] Antonazzo I C, Raschi E, Forcesi E, *et al.* Multiple sclerosis as an adverse drug reaction: Clues from the FDA Adverse Event Reporting System [J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2018, 17(9): 869-874.

[责任编辑 崔艳丽]