

干预实验性自身免疫性脑脊髓膜炎的天然产物及其作用机制

王元花, 杨 敏, 程晓东*

上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 临床免疫研究所, 上海 200437

摘 要: 实验性自身免疫性脑脊髓膜炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 模型是研究人类多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 的经典动物模型, 研究发现诸多天然产物具有干预 EAE 的作用。对近 10 年报道的具有干预 EAE 活性的生物碱类、黄酮类、萜类、多酚类等天然产物及其作用机制进行综述, 为 MS 等神经自身免疫性疾病临床研究和治疗提供参考。

关键词: 实验性自身免疫性脑脊髓膜炎; 多发性硬化; 细胞因子; 信号通路; 生物碱类; 黄酮类; 萜类; 多酚类

中图分类号: R284; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)04-1012-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.04.033

Effect and mechanism of natural compounds in treatment of EAE

WANG Yuan-hua, YANG Min, CHENG Xiao-dong

Institute of Clinical Immunology, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

Abstract: Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) is a classic animal model for the study of human multiple sclerosis (MS). A number of studies have found that natural compounds possessed effects on the treatment of EAE. In this paper, we consulted related literatures, classified natural compounds such as alkaloids, flavonoids, terpenoids, and polyphenols, and explained the treatment mechanisms against EAE of Chinese materia medica, and to provide references for clinical research and treatment of neurological autoimmune diseases such as MS.

Key words: experimental autoimmune encephalomyelitis; multiple sclerosis; cytokine; signal pathway; alkaloids; flavonoids; terpenoids; polyphenols

多发性硬化 (MS) 是中枢神经系统 (CNS) 自身免疫反应介导的慢性炎性脱髓鞘疾病, 可反复发作、致残率较高, 严重危害人类健康^[1]。实验性自身免疫性脑脊髓膜炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 模型与人类 MS 的病理特征非常相近, 为研究 MS 的经典动物模型^[2-3]。目前 MS/EAE 的确切发病机制尚不明确, 一般认为在疾病初期, 主要由 CD4⁺T 细胞介导免疫反应。T 细胞在外周易感因素或自身髓鞘抗原作用下被异常激活, 破坏血脑屏障 (BBB), 进入 CNS, 经抗原提呈细胞 (APC) 进一步激活后, 分泌促炎细胞因子、趋化因子等。T 细胞继续激活、趋化更多的免疫细胞形成一系列复杂的级联炎症反应, 攻击髓鞘, 导

致神经元变性和轴突损伤, 进而引发疾病。

干预 MS/EAE 的天然产物具有来源广泛, 价格低廉, 毒、副作用小等优势, 日益受到国内外研究者的重视。本文对近 10 年报道的具有干预 EAE 活性的生物碱类、黄酮类、萜类、多酚类等天然产物及其作用机制进行综述, 为 MS 等神经自身免疫性疾病临床研究和治疗提供参考。

1 生物碱类

苦参碱 (matrine) 属于四环喹啉类生物碱, 存在于苦参 *Sophora flavescens* Alt. 的种子及根中。苦参碱 150~200 mg/kg 可明显抑制 EAE 小鼠 Th1/Th17 细胞炎症因子分泌、上调神经营养因子 (NT3) 表达, 进而阻止 EAE 小鼠炎症和脱髓鞘病

收稿日期: 2018-11-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81703782); 国家自然科学基金资助项目 (81673669); 岳阳医院院级科研项目 (2018YJ01); 上海市中医药新兴交叉学科“中医临床免疫学”建设项目 (30304113598)

作者简介: 王元花 (1990—), 女, 硕士, 研究方向为中药学。Tel: (021)65161782-3135 E-mail: 18721818936@163.com

*通信作者 程晓东 (1965—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为神经免疫学和肿瘤免疫学。E-mail: xdcheng_8@yeah.net

变过程,抑制 CNS 少突胶质细胞的坏死,改善 EAE 小鼠神经功能评分^[4-5]。苦参碱可通过抑制 EAE 小鼠脑组织中白细胞介素-33 (IL-33) /可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白 (ST2) 的释放,调控小胶质细胞 M1/M2 表型的极化,修复 p75 神经营养因子受体 (p75NTR) 和神经营养因子前体 (proNGF),发挥干预 EAE 的作用^[6-7]。苦参碱可减少 EAE 大鼠髓鞘脱失,抑制伊文思蓝 (EB) 通过 BBB 外渗,剂量依赖性地增加基底膜重要成分胶原蛋白 IV 和闭锁连接蛋白-1 (ZO-1) mRNA 表达,下调基质金属蛋白酶-2 (MMP-9) /MMP-2,上调基质金属蛋白酶抑制剂-1 (TIMP-1) /TIMP-2。苦参碱 250 mg/kg 导致 TIMP-1 的表达增加量明显高于地塞米松,可显著改善 EAE 大鼠的临床症状^[8]。

小檗碱 (berberine) 是异喹啉类生物碱,广泛存在于小檗科 (Berberidaceae)、芸香科 (Rutaceae) 等植物中,具有抗炎和神经保护作用。Ma 等^[9]研究发现小檗碱可降低 EAE 小鼠的临床病理参数,显著下调并抑制 EAE 小鼠脑脊液中 MMP-9 的表达及激活,但对 MMP-2 却无显著影响;同时可以降低 BBB 的基底膜通透性,抑制淋巴细胞向 CNS 渗入,减轻炎症反应。Jiang 等^[10]报道小檗碱通过抑制白明胶酶的活性,减少层黏连蛋白的退化,使 EAE 小鼠神经免受损伤,提示该药可作为 MS 疾病的潜在治疗药物。

青藤碱 (sinomenine) 是从青藤属 *Illigera* Bl. 植物中分离的生物碱,化学结构与吗啡类似,通常作为治疗类风湿关节炎的免疫抑制药。Zeng 等^[11]研究发现青藤碱可以减少 EAE 诱导的 Lewis 大鼠脊髓组织内细胞浸润,剂量依赖性地抑制炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和 γ 干扰素 (IFN- γ) 的分泌和表达,可显著抑制 EAE 大鼠趋化因子 CC、RANTES、巨噬细胞炎症蛋白-1 α (MIP-1 α) 和单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) mRNA 表达水平。Gu 等^[12]研究发现青藤碱 50~200 mg/kg 可通过抑制 EAE 大鼠脊髓组织中诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、TNF- γ 转录因子 T-bet mRNA 和蛋白表达水平发挥作用,但体外实验表明青藤碱对星形胶质细胞 iNOS mRNA 和蛋白表达无直接抑制作用,机制研究提示青藤碱通过抑制 IFN- γ 、T-bet 途径降低 iNOS mRNA 水平,发挥治疗作用。

茛菪明碱 (pipertartine) 又名茛菪酰胺 (piperlongumine),是从长柄胡椒 *Piper sylvaticum*

Roxb.、瘤突胡椒 *P. tuberculatum* Jacq. 等胡椒科植物中提取的酰胺类生物碱,具有抗肿瘤、抗炎、镇痛等多种药理作用。Namkwon 等^[13]体外实验发现 5 μ mol/L 茛菪明碱可以抑制脂多糖 (LPS) 诱导的 BV2 神经小胶质细胞炎症反应,抑制细胞内 iNOS、环氧化酶-2 (COX-2)、TNF- α 、IL-6 表达。Gu 等^[14]研究发现茛菪明碱 1.5~3 mg/kg 可以减轻 EAE 小鼠神经组织麻痹程度和病理学改变,同时可抑制脱髓鞘和星形细胞/小胶质细胞通路激活、减少免疫细胞浸润和炎症细胞因子 iNOS、COX-2、TNF- α 、IFN- γ 水平。深入的分子机制研究发现,茛菪明碱通过阻断核转录因子- κ B (NF- κ B) 家族转录因子 p50、p65 易位至细胞核及转录因子 NF- κ B 抑制蛋白激酶 (I κ B) 的磷酸化治疗 EAE。

石杉碱甲 (huperzine A) 主要存在于石杉科 (Huperziaceae) 植物蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trev., 是第二代乙酰胆碱酯酶 (AChE) 可逆抑制剂,对老年痴呆症有显著治疗作用。Wang 等^[15]实验证明石杉碱甲通过抑制 EAE 小鼠脊髓组织 T 细胞介导的神经炎症反应,降低促炎细胞因子 IFN- γ 、IL-17,炎症趋化因子 MCP-1、RANTES、TWEAK 等 mRNA 表达水平,改善 EAE 小鼠脑组织病变程度。Tian 等^[16]研究发现 ip 石杉碱甲 0.1 mg/(kg·d) 可以显著减轻 EAE 小鼠脑脊髓炎症反应、脱髓鞘病变和轴突损伤程度,机制研究表明石杉碱甲通过抑制组织中 CCL2、IL-6、TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子分泌而发挥作用。

新烟草碱 (anatabine) 是从茄科植物分离提取的烟草类生物碱,具有抗炎、兴奋脑神经功效。Daniel 等^[17]和 Paris 等^[18]研究证实新烟草碱可以抑制 LPS 诱导的神经小胶质细胞和单核细胞内转录因子信号传导及转录激活因子 3 (STAT3)、NF- κ B 磷酸化水平,进一步研究发现新烟草碱可通过血脑屏障,降低 Th1、Th17 水平,抑制 NF- κ B 家族转录因子 p65、STAT3 磷酸化反应。新烟草碱 20 mg/(kg·d) 可显著改善 EAE 小鼠神经功能缺陷。

具有干预 EAE 活性的生物碱类化合物结构见图 1。

2 黄酮类

黄芩素 (baicalein) 是从唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 根中提取的多羟基黄酮,具有抗癌、抗病毒、抗肿瘤等生物活性。Zhang 等^[19]体内实验发现 ip 黄芩素 100 mg/(kg·d) 对 EAE 小鼠具有

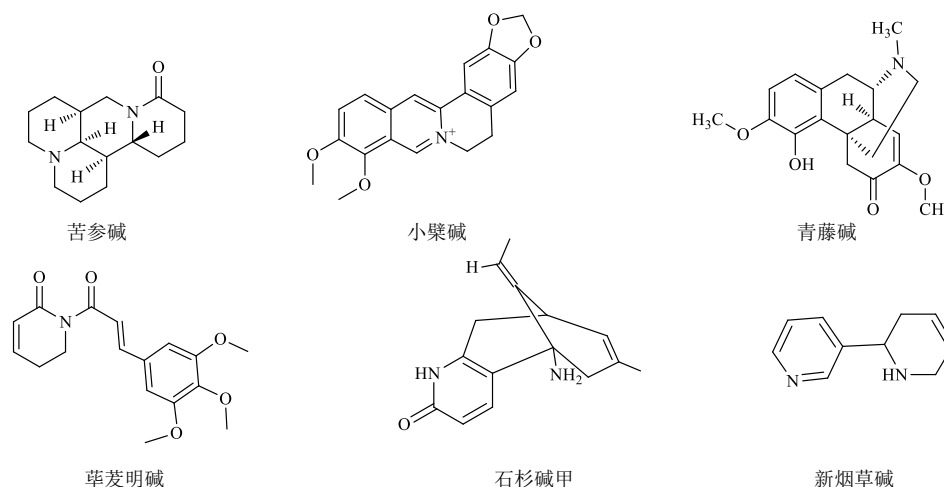


图 1 具有干预 EAE 活性的生物碱类化合物结构

Fig. 1 Structures of alkaloids with EAE inhibitory activity

治疗和预防作用,黄芩素可以降低 CNS 炎症细胞浸润,抑制炎症因子 IL-17A、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6、IL-1、IL-23、转化生长因子- β (TGF- β)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 和炎症趋化因子 CXCL1、CXCL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CCL20 的释放,并通过调控 STAT/NF- κ B 通路,抑制 Th1 (CD4⁺IFN- γ ⁺) 细胞和 Th17 (CD4⁺IL-17⁺) 细胞的分化。机制研究表明,阻断 Th17 细胞内的细胞因子信号抑制物 3 (SOCS3) 通路可以逆转黄芩素对炎症细胞的抑制作用,说明黄芩素通过促进胞内 SOCS3 表达发挥抗炎作用^[19]。Xu 等^[20]发现黄芩素通过抑制细胞内 12/15-脂氧合酶 (12/15-LO) 表达水平,从而增加胞内过氧化物酶体增殖激活受体 (PPAR β/δ) 的表达,抑制 EAE 小鼠自身免疫 T 细胞向 CNS 的迁移和小胶质细胞的激活。

金雀异黄素 (genistein) 又称木黄酮、染料木素,是从豆科植物大豆 *Glycine max* (Linn.) Merr. 中提取的异黄酮,为一种强效的酪氨酸蛋白激酶和拓扑异构酶抑制剂。Dias 等^[21]研究发现 sc 金雀异黄素 200 mg/kg 可以延长 EAE 小鼠疾病潜伏期,进一步深入研究证明,金雀异黄素通过增强 Toll 样受体 3 (TLR3)、TLR9 表达,减轻炎症反应和脱髓鞘病变,对 EAE 模型神经系统早期病变发挥预防作用。另有相关研究^[22]报道金雀异黄素 200 mg/kg 对 EAE 模型小鼠具有治疗作用,可下调 IFN- γ 、TNF- α 、IL-10 表达,活体显微镜检查法发现金雀异黄素可以抑制白细胞向 CNS 的迁移和黏附,从而发挥药理作用。

水飞蓟素 (silymarin) 是从菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* (L.) Gaertn. 中提取的黄酮木脂素,具有抗病毒、抗纤维化、抗肿瘤、保肝等药效。Min 等^[23]报道水飞蓟素对 EAE 小鼠 CNS 具有免疫调节作用,ig 给予水飞蓟素 10 mg/(kg·d) 可以减轻 EAE 小鼠 CNS 组织病变程度。进一步研究表明,水飞蓟素能够剂量依赖性降低 Th1 细胞分泌的促炎细胞因子 IL-2、IL-12 表达,增加 Th2 细胞分泌的抗炎细胞因子 IL-4 水平,发挥治疗 EAE 的生物学效应。Navabi 等^[24]研究水飞蓟素对接受贝他费隆治疗的 MS 患者 Th1 细胞的调节作用,结果表明该化合物剂量依赖性的抑制 Th1 细胞内转录因子 T-bet、IFN- γ 水平,阻止 Th1 细胞的扩散和激活。

白杨素 (chrysin) 来源于紫葳科 (Bignoniaceae) 植物木蝴蝶 *Oroxylum indicum* (L.) Kurz, 在蜂胶、蜂蜜中含量较高,具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化等多种生物学效应。Lee 等^[25]研究证实 30~100 μ mol/L 白杨素可以降低 LPS 诱导的小鼠脑微血管内皮细胞内人血管内皮细胞黏附分子 1 (VCAM-1) mRNA 和蛋白表达水平,阻止炎症细胞向脑微血管内皮细胞的黏附。深入研究发现白杨素通过抑制 LPS 诱导的胞内 NF- κ B 家族转录因子、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、C-Jun 氨基端激酶 (JNK) 发挥效应。Zhang 等^[26]发现 ig 给予白杨素 100 mg/(kg·d) 可显著降低 EAE 小鼠 CNS 的炎症反应和脱髓鞘病变,进一步研究证实白杨素通过抑制模型小鼠 CNS 中 Th1 细胞和树突状细胞 (DC) 分化和成熟,降低 Th1 细胞分泌的细胞因子、趋化因子和 DC 细胞因

子 IL-12 p35 表达发挥作用。

橙皮苷 (hesperidin) 又称橘皮苷, 属于二氢黄酮, 具有抗炎、抗氧化、抗菌等药理作用。Hagmoraad 等^[27]研究发现橘皮苷 50~200 mg/kg 可以抑制 EAE 小鼠病情进展, 减少 CNS 少量白细胞浸润, 促进 Treg 细胞增殖, 抑制 Th17 细胞增殖, 降低 IL-17、IL-6 表达水平。深入研究发现橘皮苷通过抑制 Th17/Treg 细胞转录因子 ROR γ t 表达, 增强转录因子 Foxp3 表达而发挥效应。Ciftci 等^[28]证实橙皮苷 50 mg/kg 主要通过减少 EAE 小鼠大脑组织中过度的脂质过氧化反应, 降低高强度的氧化应激反应, 防止 CNS 的过度免疫反应, 降低细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 水平, 诱导半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 高表达, 促进炎症细胞凋亡而预防和治疗 EAE。

芹菜素 (apigenin) 又称“植物雌激素”, 具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、调血脂等疗效。Ginwala 等^[29]报道芹菜素可改善 EAE 小鼠的疾病严重程度, 减少复发次数, 阻止 DC 细胞和 T 细胞向 CNS 聚集, 减轻 CNS 中的免疫细胞浸润和脱髓鞘反应, 深入研究发现芹菜素可通过显著降低免疫细胞内整合素 α 4 和 C 型凝集素 12A (CLEC12A) 表达而发挥药

效。Alpha B-crystallin 属于一种小热休克蛋白, 有报道 alpha B-crystallin 的高表达与自身免疫性疾病、神经系统变性疾病等很多病理情况相关^[30]。Verbeek 等^[31]采用外周淋巴细胞体外研究芹菜素的抗炎作用, 发现其在 3.5~35 μ mol/L 时能够显著抑制自身反应性 T 细胞内 alpha B-crystallin 抗体和 IFN- γ 表达。

甘草查耳酮 A (licochalcone A) 是从甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 根茎中提取的一类天然黄酮, 具有抗炎、抗菌、抗肿瘤和抗寄生虫等多种药理活性。Huang 等^[32]发现甘草查耳酮 A 对帕金森症 (PD) 小鼠具有神经保护作用, 深入研究发现甘草查耳酮 A 通过抑制细胞外调节蛋白激酶 (ERK1/2) 和 NF- κ B 家族转录因子 p65 磷酸化水平, 阻止神经小胶质细胞的激活和多巴胺能神经元的减少。Fontes 等^[33]报道 ig 给予 EAE 模型小鼠甘草查耳酮 A 40 mg/kg 可以延缓病情进展, 并降低 EAE 模型小鼠临床症状评分, 机制实验证明 40 μ mol/L 甘草查耳酮 A 通过抑制 EAE 小鼠免疫细胞内 H₂O₂、一氧化氮 (NO)、IFN- γ 、TNF- α 、IL-17 表达发挥免疫调节作用。

具有干预 EAE 活性的黄酮类化合物结构见图 2。

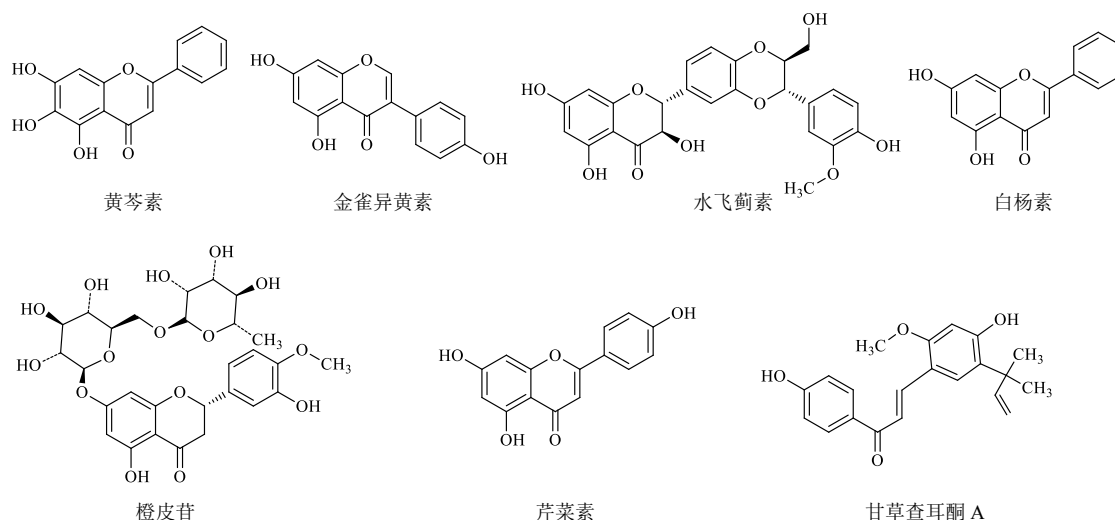


图 2 具有干预 EAE 活性的黄酮类化合物结构

Fig. 2 Structures of flavonoids with EAE inhibitory activity

3 萜类

雷公藤甲素 (triptolide) 是从卫矛科 (Celastraceae) 植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 中提取的三环二萜类化合物, 具有抗癌、抗炎等生物活性。Wang 等^[34]研究发现 ip 雷公藤甲素 100 μ g/kg 可明显延缓由髓鞘少突胶质细胞糖蛋

白 (MOG) 导致的 EAE 小鼠脑组织损伤, 减轻 CNS 炎症反应和脱髓鞘病变。机制研究表明, 雷公藤甲素通过抑制 NF- κ B 通路、升高脾脏单核细胞中转录调控因子 Foxp3 表达水平发挥疗效。Kizelsztejn 等^[35]报道 100 μ g/kg 雷公藤甲素可使 CNS 小鼠中热休克蛋白 70 (HSP70) 表达水平升高、NF- κ B 抑制蛋白激

酶 α (IkB α) 磷酸化水平降低, 证明雷公藤甲素通过调控 HSP70、IkB α /NF- κ B 表达改善 EAE 小鼠 CNS 病变。

穿心莲内酯 (andrographolide) 是从爵床科 (Acanthaceae) 植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 中提取的二萜内酯, 具有抗炎、抗肿瘤、抑菌等功效。相关研究^[36]表明穿心莲内酯 4 mg/kg 具有延缓 EAE 模型小鼠 CNS 病变发生和降低临床症状评分的功能, 可抑制 T 细胞活化和细胞因子释放, 进一步研究发现穿心莲内酯能够干扰 EAE 小鼠 DC 细胞 NF- κ B 通路, 特异性抑制 T 细胞活化^[37], 抑制 EAE 小鼠体内的自身免疫反应。

毛萼乙素 (ericalyxin B) 是从唇形科 (Labiatae) 植物毛萼香茶菜 *Rabdosia ericalyx* (Dunn) Hara 中分离的二萜类化合物, 具有抗炎、抗肿瘤、调节免疫力和改善急性骨髓性白血病等功能^[38]。Lu 等^[39]发现 ip 毛萼乙素 10 mg/kg 可以减轻 EAE 模型小鼠 CNS 炎症反应和脱髓鞘病变, 并延迟疾病的发作。进一步实验证明, 毛萼乙素通过抑制 JAK/STAT 通路, 抑制 STAT1、STAT4 磷酸化水平而影响 Th1/CD4⁺T 细胞增殖, 抑制 STAT3 磷酸化水平而影响 Th17/CD4⁺T 细胞增殖、抑制 NF- κ B 信号通路及脑脊髓组织炎症 T 细胞增殖, 升高胞内活性氧 (ROS) 水平, 改善和治疗 EAE 小鼠病情。

腺花素 (adenanthin) 存在于唇形科 (Labiatae) 植物腺花香茶菜 *Rabdosia adenantha* (Diels) Hara 中, 具有免疫调节、抑制骨髓瘤细胞增殖等生物学效应。Yin 等^[40]发现腺花素对 EAE 小鼠具有较好的预防和治疗作用, ip 腺花素 20 mg/kg 可以降低 EAE 模型小鼠临床评分及减轻 CNS 损伤。机制研究发现, 腺花素可以通过结合 p65 亚单位、IKK 激酶, 显著抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B 活化, 降低 NF- κ B 的 DNA 结合能力, 抑制 NF- κ B 靶基因的表达, 影响抗原提呈细胞 (APCs) 增殖治疗 EAE 疾病。

紫杉醇 (paclitaxel) 主要来源于红豆杉 *Taxus chinensis* (Pilger) Rehd. 根中, 作为一种微管稳定剂, 对晚期宫颈癌、卵巢癌具有较好的治疗作用。Crume 等^[41]和 O'Sullivan 等^[42]报道连续 5 d ip 紫杉醇 20 mg/kg 可以显著降低 EAE 模型小鼠发病率、延迟病变潜伏期、降低神经功能障碍评分和抑制 CNS 炎症细胞浸润。紫杉醇可以明显抑制 EAE 小鼠 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞和 LN 细胞增殖, 降低抗原特异性 IL-17、IFN- γ 等细胞因子水平。

小白菊素 (parthenolide) 又称小白菊内酯, 是从小白菊 *Chrysanthemum parthenium* Pers. 中提取的倍半萜内酯。Lsa 等^[43]提取 EAE 小鼠脾脏细胞和腹膜细胞, 发现 1、5、20 μ mol/L 小白菊素体外可以调节 Th1、Th17 细胞增殖, 机制研究证明其通过降低 IL-12 p40、IL-6 表达水平发挥作用, 小白菊素对 EAE 的体内治疗作用有待进一步研究。NO 与 MS 等多种神经系统疾病有关, Fiebich 等^[44]研究发现小白菊素 1 μ g/mL 可以抑制神经小胶质细胞内 iNOS 产生和 NO 的释放, 进一步研究发现小白菊素通过抑制 p42/p44 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPKs) 激活发挥生物学效应。

黄芪甲苷 (astragaloside IV) 是从豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus mongholicus* (Fisch.) Bunge 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 根中提取的四环三萜皂苷, 具有免疫调节、抗病毒、调控血糖等作用。He 等^[45]研究发现 ip 黄芪甲苷 20 mg/kg 可以减轻 EAE 小鼠 CNS 病变程度, 机制研究发现黄芪甲苷通过降低细胞内 ROS 和炎症趋化因子表达水平, 抑制超氧化物歧化酶 1 (SOD1) 和谷胱甘肽过氧化物酶活性, 平衡胞内的氧化应激水平治疗 EAE。Liu 等^[46]和 Yang 等^[47]研究发现黄芪甲苷可以抑制 EAE 小鼠脑组织中小胶质细胞激活并减少炎症反应, 深入研究证明黄芪甲苷通过增强小胶质细胞内糖皮质激素受体活性, 进一步调节由糖皮质激素介导的胞内磷脂酰肌醇激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、NF- κ B、IkB 等炎症细胞因子的磷酸化水平, 调节中枢神经免疫应答。分子对接实验证实黄芪甲苷在相对较低分子作用力下仍可以与糖皮质激素受体 (GR) 结合, 同时加入糖皮质激素抑制剂 RU486 后, 体内外均可阻断黄芪甲苷对小胶质细胞 BV-2 的激活。

具有干预 EAE 活性的萜类化合物结构见图 3。

4 多酚类

白藜芦醇 (resveratrol) 是一类非黄酮多酚天然产物, 存在于豆科 (Leguminosae)、葡萄科 (Vitaceae)、百合科 (Liliaceae) 等植物中, 具有抗癌、抗衰老、抑菌等作用。Singh 等^[48]发现 ig 给予 EAE 模型小鼠白藜芦醇 (100、250 mg/kg) 可以剂量依赖性地抑制小鼠神经系统病变, 降低临床评分, 下调脑脊髓组织细胞因子 TNF- α 、INF- γ 、IL-2、IL-9、IL-12、IL-17 和趋化因子 MIP-1 α 、MCP-1 水平, 机制研究发现白藜芦醇通过激活芳香烃受体 (AhR)、

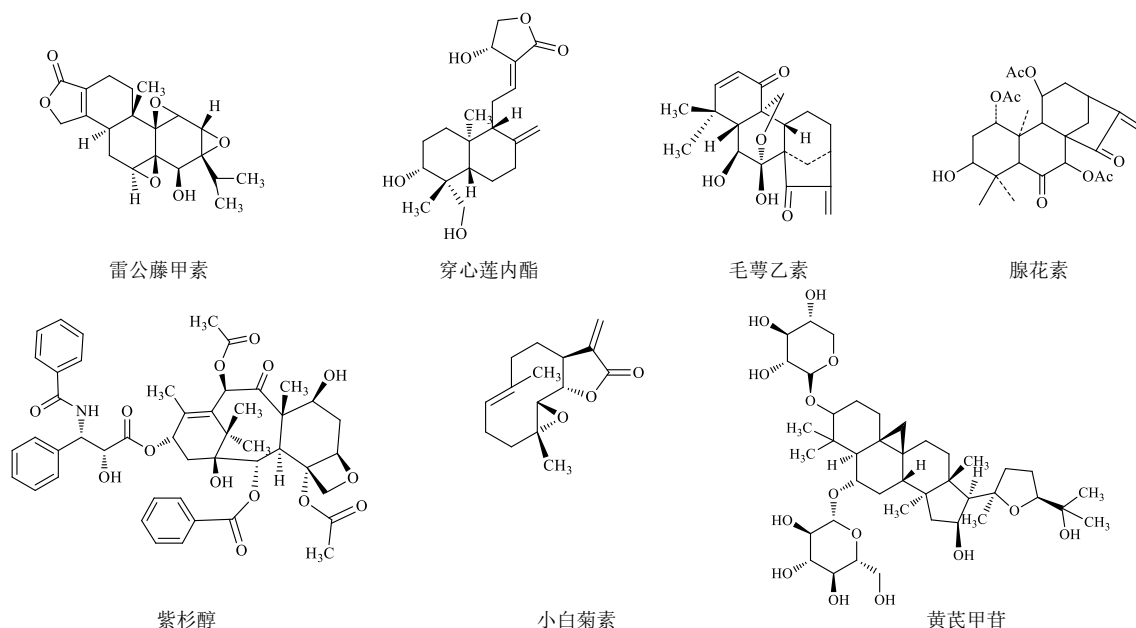


图 3 具有干预 EAE 活性的萜类化合物结构

Fig. 3 Structures of terpenoid compounds with EAE inhibitory activity

雌激素受体 (ER)、凋亡基因 Fas/FasL 诱导模型小鼠 CNS 中活化 T 细胞凋亡。Shindler 等^[49]研究证明白藜芦醇可以延缓 EAE 小鼠神经元损伤,作用机制与激活 NAD⁺端依赖脱乙酰酶 (SIRT1) 有关。

姜黄素 (curcumin) 来源于姜科 (Zingiberaceae) 植物姜黄 *Curcuma longa* L., 具有抗肿瘤、抗炎、抗纤维化等生物活性。Natarajan 等^[50]报道 ip 姜黄素 50、100 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 能够抑制 EAE 模型 SJL/J 小鼠

免疫细胞活化和组织损伤,减轻 CNS 的炎症反应和脱髓鞘病变。机制研究证明,姜黄素通过抑制 JAK/STAT 通路,降低巨噬细胞/神经胶质细胞内促炎细胞因子 IL-12 表达和 Th1 细胞分化。Fahey 等^[51]通过体外实验研究姜黄素对 T 细胞活化增殖的影响,结果表明姜黄素可以降低 IL-12 诱导的 STAT4 磷酸化水平,减少 IFN- γ 和 IL-12R β 2 的表达。

具有干预 EAE 活性的多酚类化合物结构见图 4。

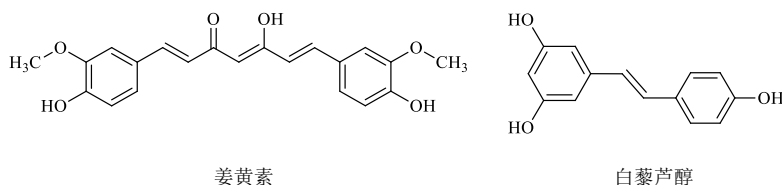


图 4 具有干预 EAE 活性的多酚类化合物结构

Fig. 4 Structures of polyphenolic compounds with EAE inhibitory activity

5 其他

白花丹素 (plumbagin) 属于萘醌类天然药物,具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化等作用。Zhang 等^[52]实验发现 ip 给予白花丹素 2 mg/kg 可以降低 EAE 模型小鼠 CNS 炎症反应和脱髓鞘病变,其通过抑制 DC 细胞增殖发挥抗炎作用。白花丹素可以抑制单核细胞来源的 DC 细胞的分化、成熟和吞噬功能,降低成熟 DC 细胞内 Th1/Th17 极化细胞因子 IL-12、IL-6、IL-1 β 、TGF- β 、IL-23、IFN- γ 和 TNF- α 的表达水平。Jia 等^[53]发现白花丹素通过调节致脑炎性 T

淋巴细胞免疫应答,从而改善 EAE 小鼠临床评分。该化合物通过降低 JAK1/JAK2 通路、STAT1/STAT4/T-bet 通路和转录因子及 NF- κ B 磷酸化水平,调控 Th1 细胞分化,抑制炎症趋化因子 iNOS、IFN- γ 、IL-6 表达,改善 EAE 模型小鼠临床症状。

瑞香素 (daphnetin) 是从长白瑞香 *Daphne koreanum* Nakai 叶中提取的香豆素,是我国自主研发的天然新型药物,临床上主要用于治疗关节炎和血栓闭塞性脉管炎。Wang 等^[54]报道 ip 瑞香素 8 mg/kg 可以抑制 EAE 小鼠 CNS 的炎症反应和脱髓

鞘病变,研究证实瑞香素通过抑制 DC 细胞的激活、成熟和抗原提呈功能,抑制 Th1、Th17 细胞增殖发挥作用。机制研究表明,瑞香素主要通过抑制 NF- κ B 通路,升高免疫负调节因子血红素加氧酶 1 表达水平,抑制 EAE 模型小鼠过度免疫反应。Song 等^[55]发现瑞香素在小鼠体内外均具有免疫抑制作用,瑞香素通过缩短细胞周期和降低炎症因子 IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ 表达,抑制 T 淋巴细胞的增殖和迁移,阻止小鼠体内超敏反应。

蛇床子素 (osthole) 又称欧芹酚甲醚,是从伞形科 (Umbelliferae) 植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. 中提取的香豆素类化合物,具有抗氧化、肿瘤抑制等活性。Chen 等^[56]发现蛇床子素 30 mg/kg 可以降低 EAE 模型小鼠 CNS 损伤程度,减轻炎症细胞浸润和脱髓鞘病变,通过增强 EAE 模型小鼠 CNS 系统神经生长因子 (NGF) 表达、减少炎症细胞因子 IFN- γ 表达发挥效应。Gao 等^[57]采用骨髓/神经干细胞疗法 (BM-NSCs) 研究蛇床子素对 EAE 模型小鼠的影响,结果表明蛇床子素可以抑制 BM-NSCs 在 CNS 的脱髓鞘反应,促进 BM-NSCs 细胞更多分化为少突胶质细胞和神经元细胞,抑制星形胶质细胞形成,促进 CNS 系统髓磷脂/轴突损伤的修复,增强 BM-NSCs 对 EAE 模型的治疗作用。

具有干预 EAE 活性的其他类化合物结构见图 5。

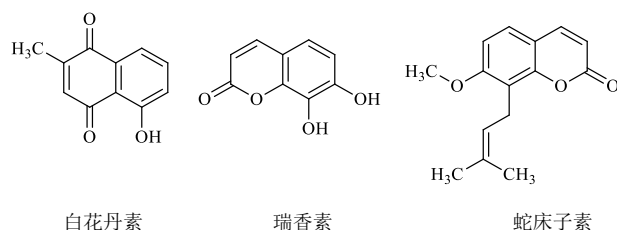


图 5 具有干预 EAE 活性的其他类化合物结构

Fig. 5 Structures of other compounds with EAE inhibitory activity

6 结语

MS 常伴有脑、视神经炎性浸润、脱髓鞘、轴突损伤和神经元丢失等病理变化,具有非创伤致残性,EAE 模型在 MS 治疗和发病机制研究方面起至关重要的作用,诸多改善 EAE 疾病的治疗方案同样适用于 MS 患者^[58]。

目前治疗 MS/EAE 的药物非常有限,通常选用干扰素、激素、免疫抑制剂等,但存在疗效差、不能彻底治愈、毒副作用大、价格昂贵等缺点。本文

总结近 10 年具有干预 EAE 作用的天然产物,发现大多数属于生物碱类、黄酮类和萜类,主要通过调控 CD4⁺T 细胞和 DC 细胞的分化, JAK/STAT、TLRs、NF- κ B 等多种细胞信号通路及 IL-12、IL-1 β 、TGF- β 、iNOS、COX-2、TNF- α 和 IFN- γ 等细胞因子表达而发挥治疗作用,但其作用机制研究尚不够深入,构效关系研究也不够明确,对这些方面的深入探索是未来研究 EAE 治疗药物的重要方向。

天然产物具有资源丰富、结构类型各异和生物活性多样等特点,将具有治疗 EAE 活性的天然产物作为先导化合物进行结构改造和修饰,或以其结构和生物活性为基础开展新型药物研究,具有一定的新药研发和临床研究价值,为 MS 等自身免疫性疾病的研究和治疗提供新的依据。

参考文献

- [1] Simon G, Estelle B. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as animal models of multiple sclerosis (MS) [J]. *CSH Perspect Med*, 2018, doi: 10.1101/cshperspect.a028977.
- [2] Constantinescu C S, Farooqi N, O'Brien K. *et al.* Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS) [J]. *Brit J Pharmacol*, 2011, 164(4): 1079-1106.
- [3] Ziemssen T, Ziemssen F. The role of the humoral immune system in multiple sclerosis (MS) and its animal model experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) [J]. *Autoimmu Rev*, 2005, 4(7): 460-467.
- [4] Liu N, Kan Q C, Zhang X J, *et al.* Upregulation of immunomodulatory molecules by matrine treatment in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Exper Mol Pathol*, 2014, 97(3): 470-476.
- [5] Zhang M L, Zhang X J, Kang J, *et al.* Matrine promotes NT3 expression in CNS cells in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Neurosci Lett*, 2017, doi: 10.1016/j.neulet.2017.04.005.
- [6] Zhao X, Zhang X, Lv Y, *et al.* Matrine downregulates IL-33/ST2 expression in the central nervous system of rats with experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Immunol Lett*, 2016, doi: 10.1016/j.imlet.2016.08.007.
- [7] Zhu L, Pan Q X, Zhang X J, *et al.* Protective effects of matrine on experimental autoimmune encephalomyelitis via regulation of ProNGF and NGF signaling [J]. *Exper Mol Pathol*, 2016, doi: 10.1016/j.yexmp.2015.12.006.
- [8] Zhang S, Kan Q C, Xu Y, *et al.* Inhibitory effect of matrine on blood-brain barrier disruption for the

- treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Med Inflamm*, 2013, doi: 10.1155/2013/736085.
- [9] Ma X, Jiang Y, Wu A, *et al.* Berberine attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis in C57 BL/6 mice [J]. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13489.
- [10] Jiang Y, Wu A, Zhu C, *et al.* The protective effect of berberine against neuronal damage by inhibiting matrix metalloproteinase-9 and laminin degradation in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Neurol Res*, 2013, 35(4): 360-368.
- [11] Zeng Y, Gu B, Ji X, *et al.* Sinomenine, an antirheumatic alkaloid, ameliorates clinical signs of disease in the Lewis rat model of acute experimental autoimmune encephalomyelitis. [J]. *Biol Pharm Bull*, 30(8): 1438-1444.
- [12] Gu B, Zeng Y, Yin C, *et al.* Sinomenine reduces iNOS expression via inhibiting the T-bet IFN- γ pathway in experimental autoimmune encephalomyelitis in rats [J]. *J Biomed Res*, 2012, 26(6): 448-455.
- [13] Namkwon K, Jimin D, Jae-Sung B, *et al.* Piperlongumine inhibits neuroinflammation via regulating NF- κ B signaling pathways in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 137(2): 195-201.
- [14] Gu S M, Yun J, Son D J, *et al.* Piperlongumine attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis through inhibition of NF- κ B activity [J]. *Free Rad Biol Med*, 2017, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.027.
- [15] Wang J, Chen F, Chen Y, *et al.* Huperzine A ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis via the suppression of T cell-mediated neuronal inflammation in mice [J]. *Exp Neurol*, 2012, 236(1): 79-87.
- [16] Tian G X, Zhu X Q, Chen Y, *et al.* Huperzine A inhibits CCL2 production in experimental autoimmune encephalomyelitis mice and in cultured astrocyte [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2013, 26(3): 757-764.
- [17] Daniel P, David B A, Myles M, *et al.* Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by anatabine [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e55392.
- [18] Paris D, Beaulieu-Abdelahad D, Abdullah L, *et al.* Anti-inflammatory activity of anatabine via inhibition of STAT3 phosphorylation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 698(1/3): 145-153.
- [19] Zhang Y, Li X, Ciric B, *et al.* Therapeutic effect of baicalin on experimental autoimmune encephalomyelitis is mediated by SOCS3 regulatory pathway [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep17407.
- [20] Xu J, Zhang Y, Xiao Y, *et al.* Inhibition of 12/15-lipoxygenase by baicalin induces microglia PPAR β/δ : A potential therapeutic role for CNS autoimmune disease [J]. *Cell Death Dis*, 2013, doi: 10.1038/cddis.2013.86.
- [21] Dias A T, Castro S B R D, Alves C C D S, *et al.* Genistein modulates the expression of Toll-like receptors in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Inflamm Res*, 2018, doi: 10.1007/s00011-018-1146-7.
- [22] De Paula M L, Rodrigues D H, Teixeira H C, *et al.* Genistein down-modulates pro-inflammatory cytokines and reverses clinical signs of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Inter Immunopharmacol*, 2008, 8(9): 1291-1297.
- [23] Min K, Yoon W K, Sang K K, *et al.* Immunosuppressive effect of silibinin in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Arch Pharm Res*, 2007, 30(10): 1265-1272.
- [24] Navabi F, Shaygannejad V, Abbasirad F, *et al.* Immunoregulatory effects of silymarin on proliferation and activation of Th1 cells isolated from newly diagnosed and IFN- β 1b-treated MS patients [J]. *Inflammation*, 2018, doi: 10.1007/s10753-018-0872-x.
- [25] Lee B K, Lee W G, Jung Y S. Chrysin attenuates VCAM-1 expression and monocyte adhesion in lipopolysaccharide-stimulated brain endothelial cells by preventing NF- κ B signaling [J]. *Inter J Mol Sci*, 2017, doi: 10.3390/ijms18071424.
- [26] Zhang K, Ge Z, Xue Z, *et al.* Chrysin suppresses human CD14(+) monocyte-derived dendritic cells and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neuroimmunol*, 2015, doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.08.017.
- [27] Haghmorad D, Mahmoudi M B, Salehipour Z, *et al.* Hesperidin ameliorates immunological outcome and reduces neuroinflammation in the mouse model of multiple sclerosis [J]. *J Neuroimmunol*, 2016, doi: 10.1016/j.jneuroim.2016.11.009.
- [28] Ciftci O, Ozcan C, Kamisli O, *et al.* Hesperidin, a citrus flavonoid, has the ameliorative effects against experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in a C57BL/J6 mouse model [J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(6): 1111-1120.
- [29] Ginwala R, Mctish E, Raman C, *et al.* Apigenin, a natural flavonoid, attenuates EAE severity through the modulation of dendritic cell and other immune cell functions [J]. *J Neuroim Pharm*, 2016, 11(1): 1-12.
- [30] Alge C S, Priglinger S G, Neubauer A S, *et al.* Retinal pigment epithelium is protected against apoptosis by

- alphaB-crystallin [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(11): 3575-3582.
- [31] Verbeek R, Plomp A C, Tol E A F V, *et al.* The flavones luteolin and apigenin inhibit *in vitro* antigen-specific proliferation and interferon-gamma production by murine and human autoimmune T cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68(4): 621-629.
- [32] Huang B X, Liu J X, Ju C, *et al.* Licochalcone A prevents the loss of dopaminergic neurons by inhibiting microglial activation in lipopolysaccharide (LPS)-induced Parkinson's disease models [J]. *Inter J Mol Sci*, 2017, doi: 10.3390/ijms18102043.
- [33] Fontes L B, Dos Santos D D, de Carvalho L S, *et al.* Immunomodulatory effects of licochalcone A on experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2014, 66(6): 886-894.
- [34] Wang Y, Mei Y, Feng D, *et al.* Triptolide modulates T-cell inflammatory responses and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neur Res*, 2008, 86(11): 2441-2449.
- [35] Kizelsztejn P, Komarnytsky S, Raskin I. Oral administration of triptolide ameliorates the clinical signs of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) by induction of HSP70 and stabilization of NF- κ B/I κ B α transcriptional complex [J]. *J Neuroimmunol*, 2009, doi: 10.1016/j.jneuroim.2009.08.017.
- [36] Iruretagoyena M I, Tobar J A, González P A, *et al.* Andrographolide interferes with T cell activation and reduces experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse [J]. *J Pharmacol Exper Ther*, 2005, 312(1): 366-372.
- [37] Iruretagoyena M I, Sepúlveda S E, Lezana J P, *et al.* Inhibition of nuclear factor-kappa B enhances the capacity of immature dendritic cells to induce antigen-specific tolerance in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Pharm Exper Ther*, 2006, doi: 10.1124/jpet.106.103259.
- [38] Wang L, Zhao W L, Yan J S, *et al.* Eriocalyxin B induces apoptosis of t(8;21) leukemia cells through NF-kappaB and MAPK signaling pathways and triggers degradation of AML1-ETO oncoprotein in a caspase-3-dependent manner [J]. *Cell Death Differ*, 2007, 14(2): 306-317.
- [39] Lu Y, Chen B, Song J H, *et al.* Eriocalyxin B ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by suppressing Th1 and Th17 cells [J]. *PNAS*, 2013, 110(6): 2258-2263.
- [40] Yin Q Q, Liu C X, Wu Y L, *et al.* Preventive and therapeutic effects of adenanthin on experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting NF-kB signaling [J]. *J Immunol*, 2013, 191(5): 2115-2125.
- [41] Crume K P, O'Sullivan D, Miller J H, *et al.* Delaying the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis with the microtubule-stabilizing compounds, paclitaxel and peloruside A [J]. *J Leukoc Biol*, 2009, 86(4): 949-958.
- [42] O'Sullivan D, Miller J H, Northcote P T, *et al.* Microtubule-stabilizing agents delay the onset of EAE through inhibition of migration [J]. *Immunol Cell Biol*, 2013, 91(9): 583-592.
- [43] Lsa D C, Lba F, Gazolla M C, *et al.* Parthenolide modulates immune response in cells from C57BL/6 mice induced with experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Planta Med*, 2016, 83(8): 693-700.
- [44] Fiebich B L, Lieb K, Engels S, *et al.* Inhibition of LPS-induced p42/44 MAP kinase activation and iNOS/NO synthesis by parthenolide in rat primary microglial cells [J]. *J Neuroimmunol*, 2002, 132(1/2): 18-24.
- [45] He Y X, Du M, Gao Y, *et al.* Astragaloside IV attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis of mice by counteracting oxidative stress at multiple levels [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76495.
- [46] Liu H S, Shi H L, Huang F, *et al.* Astragaloside IV inhibits microglia activation via glucocorticoid receptor mediated signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep19137.
- [47] Yang L, Xing F, Han X, *et al.* Astragaloside IV regulates differentiation and induces apoptosis of activated CD4⁺ T cells in the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, doi: 10.1016/j.taap.2018.10.024.
- [48] Singh N P, Hegde V L, Hofseth L J, *et al.* Resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihydroxystilbene) ameliorates experimental allergic encephalomyelitis, primarily via induction of apoptosis in T cells involving activation of aryl hydrocarbon receptor and estrogen receptor [J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 72(6): 1508-1521.
- [49] Shindler K S, Ventura E, Dutt M, *et al.* Oral resveratrol reduces neuronal damage in a model of multiple sclerosis [J]. *J Neuro-Ophthalmol*, 2010, 30(4): 328-339.
- [50] Natarajan C, Bright J J. Curcumin inhibits experimental allergic encephalomyelitis by blocking IL-12 signaling through Janus kinase-STAT pathway in T lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2002, 168(12): 6506-6513.
- [51] Fahey A J, Adrian R R, Constantinescu C S. Curcumin modulation of IFN-beta and IL-12 signalling and cytokine induction in human T cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2007, 11(5): 1129-1137.
- [52] Zhang K, Ge Z, Da Y, *et al.* Plumbagin suppresses

- dendritic cell functions and alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neuroimmunol*, 2014, 273(1/2): 42-52.
- [53] Jia Y, Jing J, Bai Y, *et al.* Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by plumbagin through down-regulation of JAK-STAT and NF- κ B signaling pathways [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e27006.
- [54] Wang D, Lu Z, Zhang H, *et al.* Daphnetin alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis via regulating dendritic cell activity [J]. *CNS Neur Ther*, 2016, doi: 10.1111/cns.12537.
- [55] Song B, Wang Z, Liu Y, *et al.* Immunosuppressive activity of daphnetin, one of coumarin derivatives, is mediated through suppression of NF- κ B and NFAT signaling pathways in mouse T cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96502.
- [56] Chen X, Pi R, Zou Y, *et al.* Attenuation of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57 BL/6 mice by osthole, a natural coumarin [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 629(1/3): 40-46.
- [57] Gao Z, Wen Q, Xia Y, *et al.* Osthole augments therapeutic efficiency of neural stem cells-based therapy in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 124(1): 54-65.
- [58] Zamvil S S, Steinman L. How to successfully apply animal studies in experimental allergic encephalomyelitis to research on multiple sclerosis [J]. *Annal Neurol*, 2010, 60(1): 12-21.