

## 青蒿素及其衍生物在肾病领域中作用机制的研究进展

陈素枝, 杨凤文, 李永章, 王广建, 檀金川\*

河北省中医院, 河北 石家庄 050011

**摘要:** 青蒿治疗疟疾已有 1600 多年的历史, 青蒿素是从黄花蒿 *Artemisia annua* 茎叶中提取的含过氧基团的倍半萜内酯, 已成为一个全新的天然抗疟药。青蒿素及其衍生物(双氢青蒿素、青蒿琥酯、蒿甲醚)因其确切的抗疟效果走向世界, 随之越来越多的潜在药理活性被发掘, 如抗菌、杀虫、抗炎、抗癌、免疫调节等活性。近年来随着对青蒿素及其衍生物的研究和探索, 发现其能通过调节多种信号通路、抗氧化应激以及调节激素受体和 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群分化等途径治疗狼疮性肾炎、免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 肾病、糖尿病肾病、膜性肾病、肾纤维化及急性肾损伤, 使其成为慢性肾脏病领域极具开发潜力的药物。

**关键词:** 黄花蒿; 青蒿素; 双氢青蒿素; 青蒿琥酯; 蒿甲醚; 肾病

**中图分类号:** R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)07-2164-10

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.07.027

## Research progress on mechanism of artemisinin and its derivatives in field of nephropathy

CHEN Su-zhi, YANG Feng-wen, LI Yong-zhang, WANG Guang-jian, TAN Jin-chuan

Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China

**Abstract:** Qinghao (*Artemisiae Annuae Herba*) has a history of treating malaria for more than 1600 years. Artemisinin is a peroxy group-containing sesquiterpene lactone extracted from the stems and leaves of *Artemisia annua*, and has become a new natural antimalarial drug. Artemisinin and its derivatives (dihydroartemisinin, artesunate, artemether) have gone to the world because of their exact antimalarial effects, and then more and more potential pharmacological activities have been discovered, such as antibacterial, insecticidal, anti-inflammatory, anti-cancer, immunomodulatory and other pharmacological activities. In recent years, with the research and exploration of artemisinin and its derivatives, it has been found that artemisinin can treat lupus nephritis, IgA nephropathy, diabetic nephropathy, membranous nephropathy, renal fibrosis and acute kidney injury by regulating multiple signaling pathway, antioxidant stress, hormone receptor and CD4<sup>+</sup> T cell subsets differentiation, which make them become the drugs with great potential in the field of chronic kidney diseases.

**Key words:** *Artemisia annua* Linn.; artemisinin; dihydroartemisinin; artesunate; artemether; nephropathy

肾脏疾病主要分为急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 和慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 2 类。CKD 患者罹患 AKI 的风险增加, 并且 AKI 反复发作加速了 CKD 的进展。无论病因是什么, CKD 都会缓慢进展, 并导致不可逆的肾单位丢失, 进而发展为终末期肾脏病。全球 CKD 死亡风险正在迅速增加, 说明当前治疗方法的不足。炎症、氧化应激、线粒体功能障碍是 AKI 和 CKD 发生发展的重要病理机制<sup>[1-3]</sup>。

青蒿素是青蒿的主要及重要有效成分<sup>[4]</sup>, 以青蒿

为基础改造形成的青蒿琥酯抗疟疗效提高了 5 倍<sup>[5]</sup>, 将青蒿素催化氢化、还原得到的二氢青蒿素抗疟效果是青蒿素的 2 倍<sup>[5]</sup>。青蒿素及其衍生物除了有强大的抗疟活性外, 还有抗菌、杀虫<sup>[6]</sup>、抗炎<sup>[6]</sup>、抗肿瘤<sup>[7]</sup>、免疫调节<sup>[8]</sup>等活性。由于抗炎及免疫调节作用, 其被应用于肾脏疾病领域, 研究显示其还有一定的抗氧化及激素敏化作用, 使其成为 CKD 领域一种极具开发潜力的药物。本文探讨了青蒿素及其衍生物对肾脏疾病的治疗作用及对介导炎症、氧化应激及免疫调节等分子机制的干预作用。

收稿日期: 2021-09-22

基金项目: 河北省自然科学基金青年项目 (H2020423049); 河北省中医药管理局科研计划项目 (2021008)

作者简介: 陈素枝 (1989—), 女, 主治医师, 博士, 主要从事中西医结合治疗慢性肾脏病的研究。E-mail: 781506436@qq.com

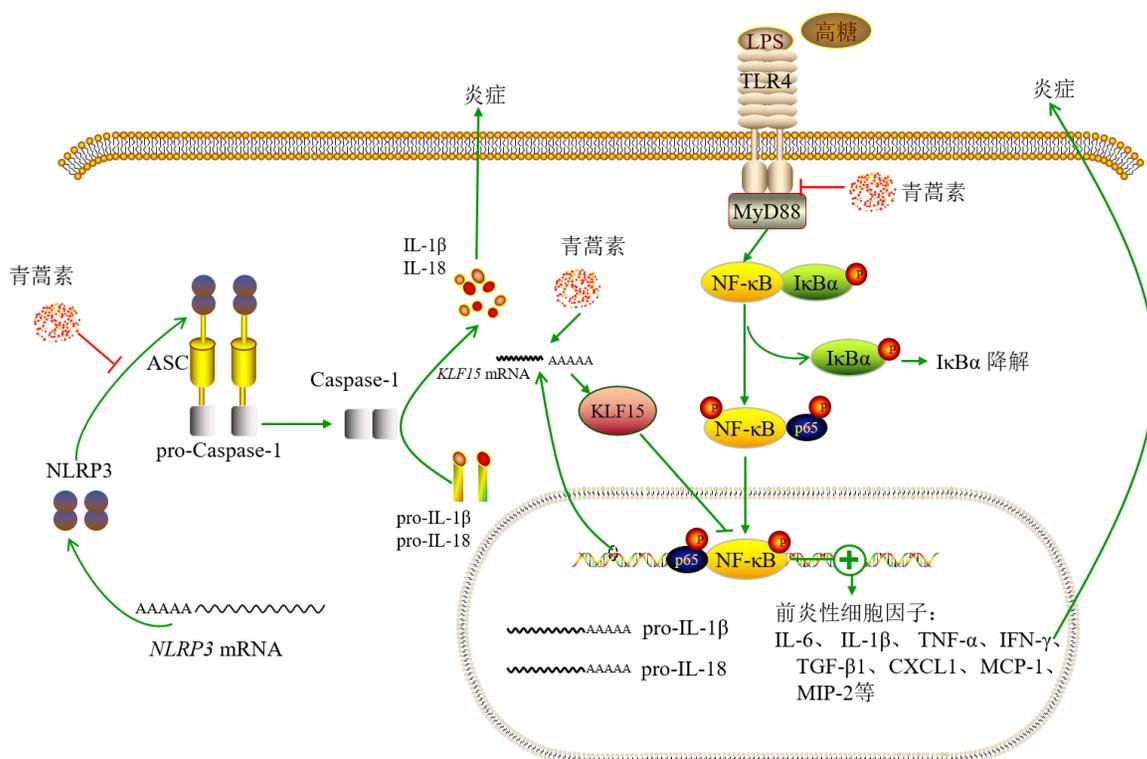
\*通信作者: 檀金川 (1964—), 主任医师, 博士, 主要从事中西医结合治疗慢性肾脏病的研究。E-mail: 781506436@qq.com

## 1 狼疮性肾炎

### 1.1 调节 Krüppel 样因子 15/核因子-κB (Krüppel like factor 15/nuclear factor-κB, KLF15/NF-κB) 信号途径, 减轻炎症反应

狼疮性肾炎是系统性红斑狼疮最常见、最严重的并发症之一。在过去的几十年中, 抗疟药尤其是羟氯喹, 已成为系统性红斑狼疮治疗的关键部分。2020 年改善全球肾脏病预后组织明确建议狼疮性肾炎患者使用抗疟药物治疗<sup>[9]</sup>。青蒿素作为同等或效果更突出的抗疟药在狼疮性肾炎的应用被重视。研究显示羟氯喹 16.6 mg/kg 联合青蒿素 5.55 mg/kg、羟氯喹 33.3 mg/kg 及泼尼松 10 mg/kg 对狼疮性肾

炎小鼠有相似的免疫抑制作用, 均能显著降低抗双链 DNA、抗核抗体和免疫球蛋白 G 的水平, 机制在于增加足细胞分化关键调节剂 KLF15 的表达, 抑制下游 NF-κB 的活性, 降低血清炎症因子 γ 干扰素 (interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) 和转化生长因子-β1 (transforming growth factor-β1, TGF-β1) 的水平来逆转炎症反应<sup>[10]</sup>。相似的研究发现青蒿素 150 mg/kg 可以降低狼疮性肾炎小鼠肾组织 NF-κB p65 蛋白和 NF-κB、TGF-β1 mRNA 的表达, 降低血清 TNF-α 和白细胞介素 (interleukin, IL)-6 水平, 效果较泼尼松 6.45 mg/kg 更有优势<sup>[11]</sup>, 见图 1。



ASC-凋亡相关斑点样蛋白 NLRP3-NOD 样受体蛋白 3 Caspase-1-半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 IκBα-NF-κB 抑制蛋白 α LPS-脂多糖 TLR4-Toll 样受体 4 MyD88-骨髓样分化因子 88 CXCL1-CXC 类趋化因子 1 MCP-1-单核细胞趋化蛋白-1 MIP-2-巨噬细胞炎性蛋白 2 ASC-apoptosis-associated speck-like protein NLRP3-NOD-like receptor protein 3 Caspase-1-cystein-aspartate protease-1 IκBα-inhibitor-α of nuclear transcription factor-κB LPS-lipopolysaccharide TLR4-Toll-like receptor4 MyD88-myeloid differentiation factor 88 CXCL1-CXC motif ligand 1 MCP-1-monocyte chemotactic protein-1 MIP-2-macrophage inflammatory protein-2

图 1 青蒿素通过调节 KLF15/NF-κB 信号通路, 抑制 TLR4/NF-κB/NLRP3 炎症小体通路减轻炎症反应

Fig. 1 Artemisinin regulating KLF15/NF-κB signal pathway and inhibiting TLR4/NF-κB/NLRP3 inflammasome pathway to reduce inflammation

### 1.2 调节糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptors, GR) α/β, 提高激素敏感性

同样的研究显示, 青蒿素联合低剂量 (3.225 mg/kg) 糖皮质激素治疗狼疮性肾炎小鼠效果优于常规剂量 (6.45 mg/kg) 糖皮质激素, 提示青蒿素可

能对糖皮质激素治疗具有敏化作用<sup>[12]</sup>。糖皮质激素作用于机体的敏感性取决于外周血单个核细胞中 GRα 和 GRβ 的比值<sup>[13]</sup>, GRβ 是经典的 GRα 显性负抑制剂, GRα/GRβ 值上升提示糖皮质激素治疗敏感性好, GRα/GRβ 值下降则提示糖皮质激素耐药。这

2 种受体在肾组织中有共同的组蛋白乙酰转移酶腺病毒 E1A 相关的 300 000 蛋白/环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (adenoviral E1A binding protein of 300 000/ CREB binding protein, p300/CBP) 结合位点, 这是肾组织中的一种转录共激活蛋白, 在基因结构中占主导地位<sup>[14]</sup>, 糖皮质激素受体可借助转录共激

活因子 p300/CBP 增强自身活性, 进而增强激素的有效性。研究显示青蒿素可以提高狼疮性肾炎小鼠转录共激活因子 p300/CBP 蛋白和 *GR $\alpha$*  mRNA 的表达, 降低 *GR $\beta$*  mRNA 的表达, 调节 *GR $\alpha$* /*GR $\beta$*  值, 可能是其增加糖皮质激素敏感性的作用机制<sup>[12]</sup>, 见图 2。

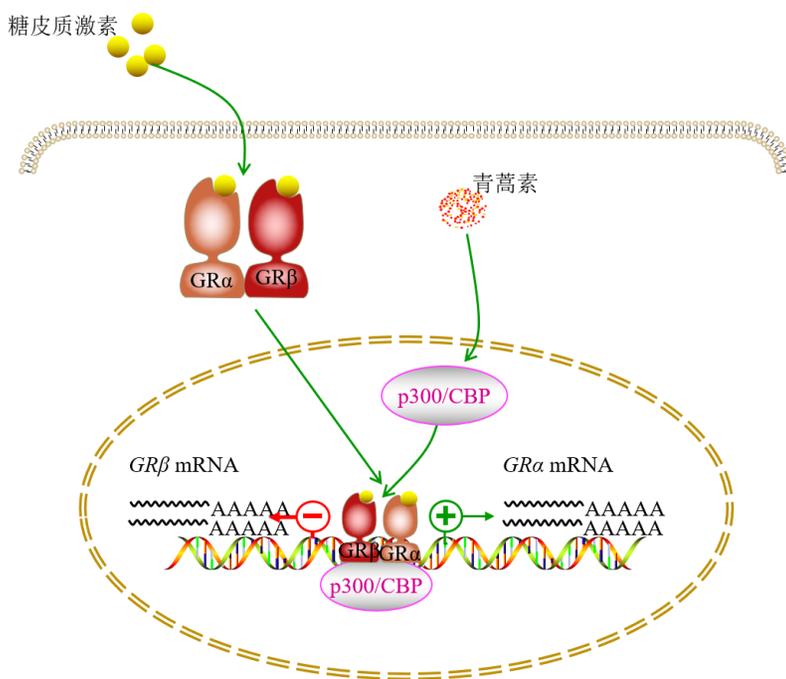


图 2 青蒿素通过提高转录共激活因子 p300/CBP 水平, 调节 *GR $\alpha$* /*GR $\beta$* , 增加糖皮质激素敏感性

Fig. 2 Artemisinin increasing transcriptional co-activator p300/CBP protein levels, regulating ratio of *GR $\alpha$* /*GR $\beta$*  and increasing sensitivity of glucocorticoid

## 2 免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 肾病

### 2.1 介导外泌体释放抑制 NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路, 减轻免疫炎症 (图 1)

IgA 肾病是一种自身免疫性疾病, 由 IgA 免疫复合物沉积介导免疫炎症, 伴系膜细胞增殖的一种病理类型。NLRP3 炎性小体 (一种多蛋白复合物) 被认为是炎症反应的关键因子<sup>[15]</sup>, NF- $\kappa$ B 是免疫炎症性疾病中 NLRP3 炎性小体活化的关键诱导剂<sup>[16]</sup>, IgA 肾病中由 NF- $\kappa$ B 激活诱导的免疫炎症是 IgA 肾病进展的关键因素。实验研究显示, 青蒿素联合羟氯喹可明显增强 IgA 肾病大鼠肾小管上皮细胞外泌体的分泌, 经由肾小球系膜细胞吸收后抑制 NF- $\kappa$ B 信号和 NLRP3 炎性小体的活性, 进而抑制 NLRP3 炎性小体相关蛋白 I $\kappa$ B $\alpha$ 、p-p65、NLRP3、ASC、IL-1 $\beta$  和 Caspase-1 的表达, 最终达到抑制炎症的目的。该研究阐释了羟氯喹治疗 IgA 肾病作用机制是介导外泌体释放以抑制 NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路的激活来减

轻肾脏病理损伤<sup>[17]</sup>。

### 2.2 调节 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群分化, 抑制免疫反应

IgA 肾病中 IgA 抗体由活化的 B 细胞产生, 活化的 B 细胞由 T 细胞调节<sup>[18]</sup>。外周血和免疫器官中活化的 T 细胞越多, B 淋巴细胞产生的 IgA 就越多。既往研究显示青蒿素衍生物有抑制 MRL/lpr 小鼠 B 细胞活化和增殖及抗体的分泌, 对易患狼疮的 MRL/lpr 小鼠具有治疗作用<sup>[19]</sup>。这些研究表明, 青蒿素具有调节 IgA 肾病中 T 细胞介导的免疫性疾病的潜在治疗作用。相关研究也证实了 AH 治疗可以逆转 IgA 大鼠增大的脾、肾和胸腺, 提示其可能具有抑制 IgA 大鼠免疫反应药理活性<sup>[20]</sup>。

辅助性 T 细胞 (T helper, Th) 细胞分化是正在进行免疫反应的标志, 其通过协调 B 细胞的效应子功能起作用<sup>[20]</sup>。Th 细胞亚群 Th1、Th2、Th17 和调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg) 细胞分别产生 IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-17 和叉头蛋白 p3 (forkhead box protein 3,

Foxp3)。Th1 和 Th2 亚群对诱导 B 细胞增殖和促进各种免疫球蛋白的分泌具有直接或间接作用<sup>[21]</sup>。Th1 细胞主要分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-2 等，参与细胞免疫并介导细胞毒 T 细胞和巨噬细胞的活化。Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5 等，促进 B 细胞活化并产生抗体，介导体液免疫反应。Treg 细胞通过阻碍 T 细胞的活化和增殖来维持免疫平衡，Foxp3 是一种转录因子，被认为

是 Treg 细胞的最特异标志物<sup>[22]</sup>。分泌 IL-17 的 Th17 细胞是组织炎症的有效诱导剂<sup>[23]</sup>。进一步的研究显示，青蒿素可降低 IgA 肾病中 Th2 和 Th17 细胞的比例，抑制 IL-4 和 IL-17 的分泌；并可促进 Th1 和 Treg 细胞亚群的分化，改善了 IFN- $\gamma$  和 Foxp3 的分泌不足<sup>[20]</sup>。该研究表明青蒿素通过调节 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群的分化对 IgA 肾病大鼠具有免疫抑制作用（图 3）。

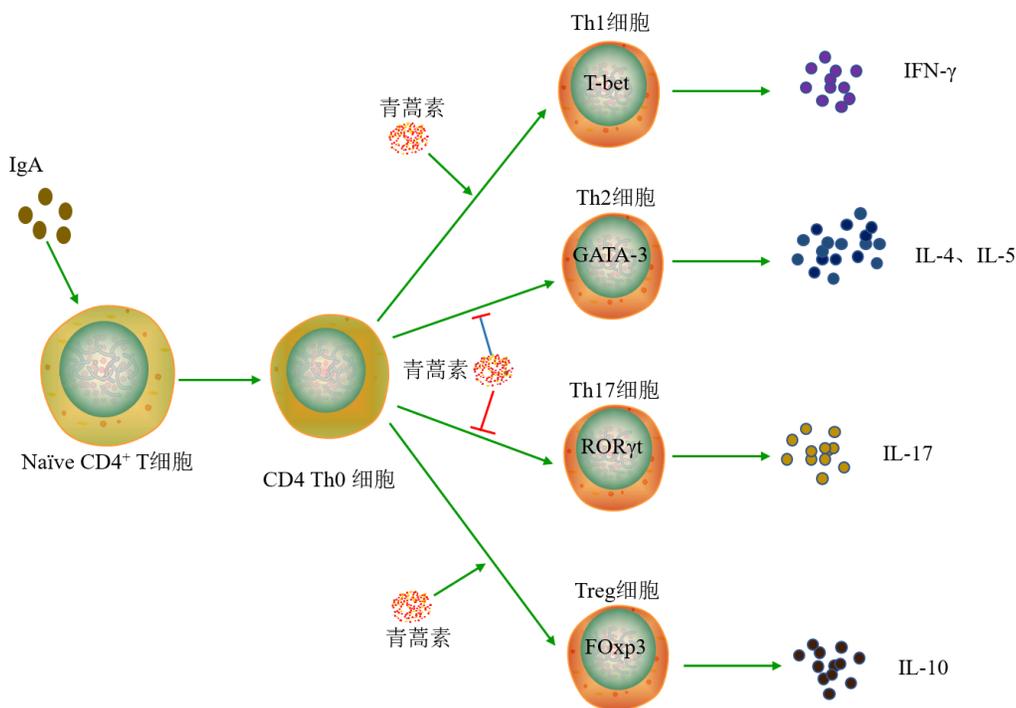


图 3 青蒿素通过调节 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群分化抑制免疫反应

Fig. 3 Artemisinin regulating differentiation of CD4<sup>+</sup> T cell subsets to suppress immune response

### 3 糖尿病肾病

糖尿病肾病是糖尿病的最严重并发症，是糖尿病患者死亡的主要原因。既往关于青蒿素治疗糖尿病的研究表明，青蒿素可以改变产生胰高血糖素的  $\alpha$  样细胞的表现遗传程序，将产生胰高血糖素的  $\alpha$  样细胞转化为产生胰岛素的  $\beta$  样细胞，以诱导其生化功能的改变<sup>[24]</sup>。通过 RNA 测序技术检测青蒿素干预糖尿病肾病大鼠后基因表达差异的情况，发现存在 69 个差异性表达的基因，这些基因可能是青蒿素治疗糖尿病肾病潜在的靶标<sup>[25]</sup>。这些研究证实了青蒿素对糖尿病肾病的肾脏保护作用。

#### 3.1 激活核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related actor 2, Nrf2) 信号通路，减轻氧化应激损伤

氧化应激是糖尿病出现并发症的重要机制之一，其中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 在

其发生发展中起重要作用。糖尿病时肾脏容易受到氧化应激的攻击，导致肾组织细胞损伤和信号通路异常，从而促进糖尿病肾病的发展<sup>[26]</sup>。体内过多的 ROS 会侵蚀生物膜中的不饱和脂肪酸，从而导致脂质过氧化和脂质过氧化物的形成，如丙二醛 (malondialdehyde, MDA)。超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 是体内重要的抗氧化酶，可以清除超氧阴离子自由基，保护细胞免受氧化应激损伤。谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 可以去除细胞中有害的过氧化物代谢产物，并阻断脂质过氧化的连锁反应。研究显示，青蒿素可以降低高糖诱导的 MDA 增多，并提高 T-SOD 和 GSH-Px 活性，表明青蒿素可以通过增加血清的抗氧化能力来保护糖尿病肾病大鼠的肾脏<sup>[27]</sup>。

高糖诱导的 ROS 增多作为启动因子介导 TGF-

$\beta 1$  的激活, TGF- $\beta 1$  通过自分泌和旁分泌途径促进细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 合成, 抑制 ECM 的降解, 参与 ECM 堆积。Nrf2 作为防御人体氧化应激的重要转录因子, 在身体受到 ROS 攻击时 Nrf2 被激活, 进而启动下游抗氧化基因血红素加氧酶 1 (heme oxygenase, HO-1)、醌氧化还原酶-1 (NADPH quinine oxidoreductase-1, NQO-1)、谷氨酰半胱氨酸合酶 ( $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase,  $\gamma$ -GCS) 的表达, 并发挥抗氧化活性。进一步的实验研究表明, 糖尿病肾病通过抑制肾组织中 TGF- $\beta 1$  蛋白的表达, 以及激活 Nrf2 信号通路, 并启动抗氧化蛋白 HO-1 和 NQO-1 的转录和表达, 来减轻糖尿病肾病大鼠早期的肾脏氧化应激损伤, 从而对糖尿病肾病肾脏产生保护作用<sup>[27]</sup>, 见图 4。

### 3.2 增加线粒体丙酮酸载体 (mitochondrial pyruvate carrier, MPC) 含量, 调节线粒体功能

线粒体 ROS 的过量生产会加剧线粒体功能障碍。丙酮酸作为糖酵解的终产物, 位于糖酵解与三羧酸循环的交点, 其向线粒体基质中的转运会影响碳水化合物、脂肪酸和氨基酸的代谢。MPC 是线粒体内膜载体, 介导丙酮酸胞质进入线粒体的转运。它的缺乏会导致线粒体丙酮酸的摄取和利用不良, 从

而导致发育缺陷和各种疾病, 如乳酸性酸中毒等<sup>[28]</sup>。过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅激活因子 1 $\alpha$  (peroxisome proliferatoractivated receptor $\gamma$ coactivator-1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ ) 是 ROS 代谢的广泛而强大的调节剂, PGC-1 $\alpha$  与线粒体功能和氧化还原失衡密切相关。MPC1 是 PGC-1 $\alpha$  的新型靶基因, PGC-1 $\alpha$  的过表达刺激 MPC1 的转录, 而 PGC-1 $\alpha$  的缺失则抑制 MPC 的表达<sup>[29]</sup>。研究显示, 蒿甲醚可增加肾皮质 PGC-1 $\alpha$  表达和线粒体 MPC 含量, 增强线粒体基质中丙酮酸的氧化, 进而增强肾脏呼吸交换率并调节肾脏中的线粒体功能和氧化还原状态来改善糖尿病肾病小鼠肾脏的损伤<sup>[30]</sup>, 见图 4。

### 3.3 抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 炎性体途径, 减轻肾小球系膜细胞损伤

糖尿病肾病的病理特征是肾小球 ECM 积聚, 肾小球基底膜增厚, 肾小球膜肥大和肾小球硬化<sup>[31]</sup>。氧化应激和慢性低度炎症参与了 DN 发生和病理的形成<sup>[32-33]</sup>。体外研究显示, 青蒿琥酯抑制了高糖诱导的大鼠系膜 HBZY-1 细胞的增殖, 并抑制了高糖诱导的炎性细胞因子的产生和 ECM 的沉积。进一步研究发现, 青蒿琥酯降低了高糖诱导的 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B p-p65 和 NLRP3 的表达水平, 以及

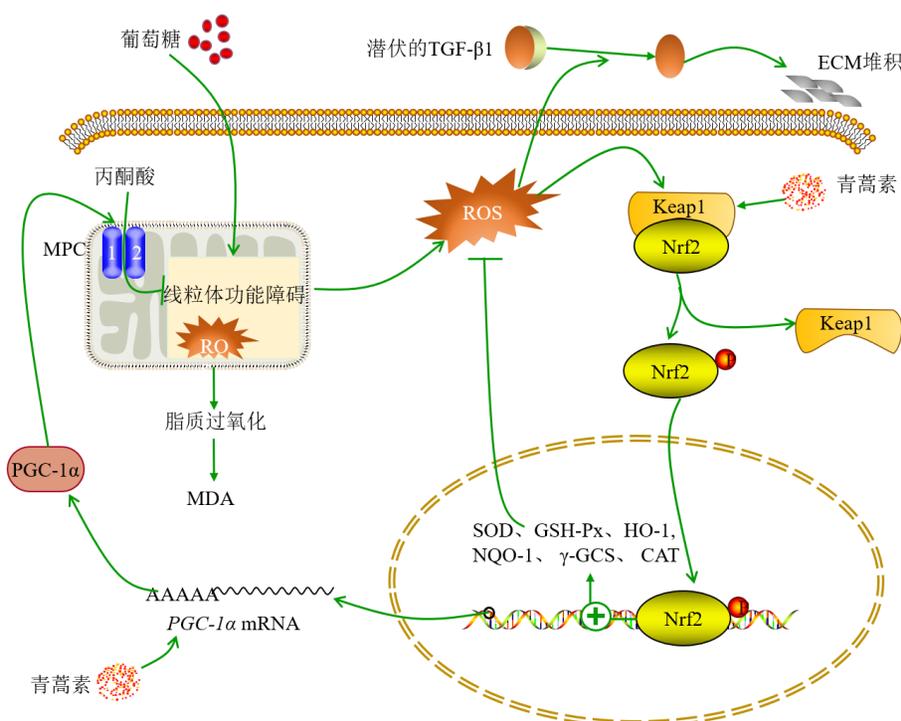


图 4 青蒿素通过激活 Nrf2 信号通路减少氧化应激损伤并增加 MPC 含量调节线粒体功能

Fig. 4 Artemisinin activating Nrf2 signaling pathway to reduce oxidative stress damage and increasing content of MPC to regulate mitochondrial function

抑制高糖诱导的 ROS 和 MDA 升高, 且改善高糖对 SOD 的抑制作用<sup>[34]</sup>。提示青蒿琥酯通过抑制炎症反应、氧化应激和 ECM 沉积, 对高糖诱导的 HBZY-1 细胞具有保护作用。表明 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 炎性体途径参与了青蒿琥酯的保护作用, 青蒿琥酯通过抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 炎性体途径, 减弱了高糖诱导的细胞增殖、炎性细胞因子 (IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ ) 的产生、氧化应激和 ECM 积聚 (图 1)。相似的研究显示, 青蒿琥酯剂量相关地抑制高糖环境下肾小管上皮 NRK-52E 细胞 TLR4、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-18 的高表达及合成, 从而发挥其抗炎作用<sup>[35-36]</sup>。

#### 4 膜性肾病

膜性肾病的病理特征在于肾小球基底膜免疫复合物及补体成分 C3、C5b-9 沉积, C5b-9 引起的足细胞损伤是膜性肾病发生发展的关键<sup>[37]</sup>。肾纤维化是几乎所有慢性肾脏疾病的最终共同途径, 同样在膜性肾病的晚期由过量的 ECM 积聚引起肾纤维化<sup>[38]</sup>。青蒿素类似物 SM934 是一种具有免疫调节活性的新型水溶性青蒿素衍生物, 对膜性肾病大鼠模型具有可观的治疗效果, 并有很强大的抗肾纤维化潜力<sup>[39]</sup>。大鼠被动性 Heymann 肾炎 (passive Heymann nephritis, PHN) 是人类膜性肾病最常用的动物模型。体内研究显示, SM934 可以减缓 PHN 大鼠肾小球肾炎和肾纤维化的进展, 表现为蛋白尿和循环抗体

水平的降低, 以及免疫复合物沉积的减少, 足细胞损伤逆转和肾小管间质纤维化减弱<sup>[39]</sup>。

在膜性肾病进展过程中受损的肾小管上皮细胞分泌促纤维化细胞因子, 尤其是 TGF- $\beta$ 1, 形成局部纤维化微环境, 促进肌成纤维细胞活化以分泌 ECM。其中, 经历上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的肾小管上皮细胞是肌成纤维细胞的重要来源<sup>[40]</sup>。膜性肾病发生过程中补体系统被激活, 既往研究证实 C3 裂解产生的过敏毒素 C3a 可以有效诱导人肾小管上皮细胞中的 EMT<sup>[41]</sup>。SM934 处理在体外阻断了 C3a 诱导的人肾 HK-2 细胞 EMT, 有效地减弱了肾小管上皮细胞向肌成纤维细胞的转化及 ECM 的产生, 表现出与 C3a 受体拮抗剂相似的抑制效果<sup>[39]</sup>。

TGF- $\beta$ 1/Smad 信号传导途径是肾纤维化中最重要的促纤维化途径之一<sup>[42]</sup>。在肾纤维化过程中, Smad 2 和 Smad 3 蛋白被活化的 TGF- $\beta$  受体磷酸化, 抑制 Smad 7 蛋白降解。SM934 干预有效地抑制了 TGF- $\beta$ 1 的表达及 Smad 2/3 磷酸化, 并显著增加肾组织 Smad 7 的表达<sup>[39]</sup>, 提示 SM934 可能对 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路有干预作用, SM934 可能通过下调 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号传导途径减轻 PHN 大鼠的肾脏损伤及肾小管间质纤维化。抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号途径, 逆转足细胞损伤和肾小管间质纤维化见图 5。

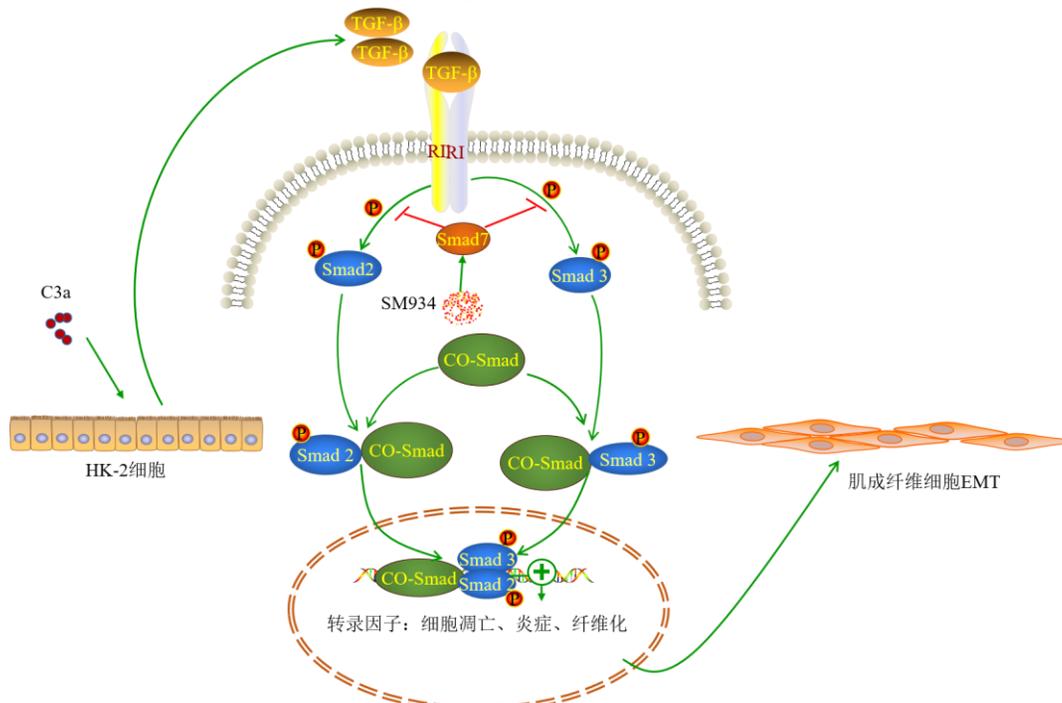


图 5 SM934 通过抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路逆转足细胞损伤和肾小管间质纤维化

Fig. 5 SM934 reversing podocyte damage and renal tubular interstitial fibrosis by inhibiting TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway

## 5 肾纤维化

解决不可逆性肾纤维化临床问题的当前方法是预防纤维化的进展,包括预防肾小管细胞损伤,减少潜在的有害炎症反应以及直接引起纤维化的靶向机制。肾纤维化的典型特征是由于肾脏 ECM 动态不平衡而导致的 ECM 蛋白(包括胶原蛋白和纤连蛋白)过度沉积。肾成纤维细胞的异常增殖及其向肌成纤维细胞的分化是进行性肾纤维化的标志。因此,抑制成纤维细胞增殖和分化可以延迟肾纤维化的进展。体内研究证实双氢青蒿素可以有效抑制单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)诱发的小鼠肾纤维化,并减轻 UUO 诱导的肾组织中成纤维细胞的增殖和分化<sup>[43]</sup>。双氢青蒿素对肾纤维化的抑制作用与 ECM 组分合成的减少直接相关,表现为抑制 I 型胶原、III 型胶原和纤连蛋白的形成<sup>[43]</sup>。

### 5.1 抑制磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 信号通路,减少成纤维细胞的增殖和分化

TGF- $\beta$ 1 是成纤维细胞的引诱剂,刺激成纤维细胞合成成纤维细胞因子,是最有效的纤维化因子,介导成纤维细胞的增殖和活化<sup>[44]</sup>。PI3K/Akt 途径在纤维化过程中起重要作用,通过调节上下游因子,促进成纤维细胞增殖及分化为肌成纤维细胞<sup>[45]</sup>。体外研究证实,双氢青蒿素显著减弱了 TGF- $\beta$ 1 诱导的人原代肾成纤维细胞增殖和成纤维细胞向肌成纤维细胞的分化,并抑制了 PI3K 和 Akt 的磷酸化<sup>[43]</sup>。该研究提示,双氢青蒿素可能通过抑制 PI3K/Akt 途径减少成纤维细胞的增殖和分化来缓解肾纤维化。

### 5.2 下调 NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号途径,减轻肾小管间质炎症和纤维化

炎性小体是在细胞感染或压力下激活的分子平台,可触发促炎性细胞因子(如 IL-1 $\beta$ 、IL-18)成熟,从而参与先天免疫防御。NLRP3 炎性小体是先天免疫系统的重要组成部分,对肾脏炎症和纤维化的发病起重要作用。炎性细胞因子的产生导致肾脏中巨噬细胞的迁移和浸润,从而促进肾小管间质纤维化的发展<sup>[46]</sup>。NLRP3 与衔接蛋白 ASC 相互作用以激活炎性小体中的 Caspase-1,活化的 Caspase-1 再促进炎性小体中 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的成熟和分泌<sup>[47]</sup>,进而引发炎症(图 1)。

肾次全切除术大鼠模型是肾脏炎症和纤维化的经典模型。研究显示,肾次全切除术大鼠肾脏中 NLRP3 和 ASC 蛋白表达以及 Caspase-1、IL-1 $\beta$  和

IL-18 表达增多,提示 NLRP3 炎性小体被激活。青蒿素干预后可以抑制 NLRP3 和 ASC 的共定位及炎症因子 Caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 的增多,对 NLRP3 炎性小体有显著抑制作用<sup>[48]</sup>。血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)诱导的 HK-2 细胞损伤用于体外肾纤维化模型研究。体外研究表明,青蒿素同样可以抑制 Ang II 诱导的 HK-2 细胞 NLRP3 炎性小体的激活<sup>[47]</sup>。

NF- $\kappa$ B 信号传导途径可以刺激下游促炎途径,是诱导和上调 NLRP3 合成的关键转录因子<sup>[16]</sup>。p65 和 I $\kappa$ B $\alpha$  蛋白水平常被作为肾脏中 NF- $\kappa$ B 活化的标志物。进一步研究显示,青蒿素在体内和体外减弱了肾纤维化模型中 NF- $\kappa$ B 信号通路,表现为显著抑制 p65 的核易位并增加 I $\kappa$ B $\alpha$  的细胞质表达。使用 NF- $\kappa$ B 阻断剂 BAY11-7082 全特异性地阻止 NF- $\kappa$ B DNA 结合来阻断 NF- $\kappa$ B 通路后, BAY11-7082 显著降低了 NLRP3 表达和下游细胞因子生成<sup>[47]</sup>。这些研究结果表明青蒿素治疗的抗炎作用是由 NF- $\kappa$ B 信号通路介导的,提示青蒿素通过 NF- $\kappa$ B/NLRP3 途径发挥其抗肾小管间质炎症活性,从而阻止了肾纤维化的进展。

## 6 AKI

AKI 是由缺血再灌注、肾毒性药物和脓毒症等多种损伤引起的破坏性疾病。病理上除了有肾小管上皮细胞和血管损伤,还常伴随过度炎症反应激活和氧化应激激增等<sup>[49]</sup>。脓毒症是重症患者最常见的 AKI 的病因(40%~50%),与脓毒症相关的 AKI 的死亡率高达 70%<sup>[50]</sup>。在 LPS 诱导的败血症性小鼠 AKI 模型中,双氢青蒿素明显减轻了小鼠肾脏病理损伤和肾小管细胞凋亡,并且相关促炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-5、IL-6、IL-17A、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、CXCL1、MCP-1 和 MIP-2 也被显著下调,提示双氢青蒿素抑制了 LPS 诱导的 AKI 小鼠炎症反应<sup>[51]</sup>。NF- $\kappa$ B 信号通路与促炎细胞因子的异常释放密切相关<sup>[52]</sup>。NF- $\kappa$ B 信号通路通过控制包括 IL-1、IL-2、IL-6、MCP-1、TNF- $\alpha$ 、黏附分子和其他促炎症反应介质在内的多个基因的表达,在炎症和免疫反应中起关键作用<sup>[53]</sup>。LPS 诱导的 AKI 小鼠肾组织 p-p65 核定位增多,双氢青蒿素处理显著阻断了 LPS 诱导的 p-p65 核易位<sup>[51]</sup>,表明双氢青蒿素对 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活有抑制作用(图 1)。

另外, LPS 注射使小鼠肾脏组织脂质过氧化产物 MDA 及氧化应激毒性产物一氧化氮产生增多,

而抗氧化因子 GSH、过氧化氢酶和 SOD 活性降低,表明 LPS 诱导了小鼠体内氧化应激。双氢青蒿素干预后改善了上述氧化指数,恢复氧化与抗氧化因子之间的平衡,提示其改善了 LPS 诱导的小鼠的氧化应激反应<sup>[53]</sup>。上述实验提示双氢青蒿素可能通过抑制 NF- $\kappa$ B 介导的炎症和抑制氧化应激来预防 LPS 诱导的 AKI (图 4)。

## 7 结语与展望

近年来,通过对青蒿素及其衍生物药理作用的深入研究,发现它们具有广泛的药理作用,包括抗炎、免疫调节等,这些药理作用使得其在肾病领域有较好的应用价值<sup>[54]</sup>。尽管实验已经证实青蒿素可以用于治疗狼疮性肾炎、IgA 肾病、膜性肾病、糖尿病肾病以及抑制肾纤维化等,并揭示了其部分作用机制,但目前还没有青蒿素或其衍生物作为辅助药物应用于临床的研究。并且其抗炎或免疫调节等效应缺乏特异性,直接参与炎症反应的分子途径的治疗方法也调节另外的过程,如纤维化等,使得难以辨别哪个保护途径在体内占主导。药物靶点之间是否存在内在联系,是否存在一种分子机制能高度概括其抗炎或免疫调节的作用机制,仍需进一步深入研究。

尽管青蒿已经研究开发出了如此多的适用疾病,但与古代医籍所写明的疗效相比仍有一些适应证待证实,如用于治疗痢疾、痔疮、结核等。中医是实践所证实的医学,古代医籍所记载的无论哪种中药的功效以及其炮制技术、煎服方式,都值得去研究以充分揭示其临床应用价值。另外,中药走向世界依靠其生物学效应明确的单体成分,但是中药各成分之间的协同作用往往强于单体成分,中药的这种价值往往被忽略。中药发挥作用的物质基础应该是多种活性成分合理、有机的组合、叠加,通过多种不同途径作用于机体内与疾病相关的多个不同的靶点,从而发挥对机体的整体调控作用。

青蒿素的成功说明中药现代化和中医标准化是中医药国际化的先行之道,在中药走向国际化的同时应保留中医特色,中医的本真是辨证论治,个体化治疗和临证处方是中医的特色和优势。中药发挥疗效具有整体性、多靶点和多成分协同作用的特点,应全面关注中药的药效物质基础研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

[1] Mafra D, Borges N A, Lindholm B, *et al.* Food as

medicine: Targeting the uraemic phenotype in chronic kidney disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2021, 17(3): 153-171.

- [2] Liles J T, Corkey B K, Notte G T, *et al.* ASK1 contributes to fibrosis and dysfunction in models of kidney disease [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(10): 4485-4500.
- [3] Emma F, Montini G, Parikh S M, *et al.* Mitochondrial dysfunction in inherited renal disease and acute kidney injury [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(5): 267-280.
- [4] 李海波, 秦大鹏, 葛雯, 等. 青蒿化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(14): 3461-3470.
- [5] 张铁军, 王于方, 刘丹, 等. 天然药物化学史话: 青蒿素: 中药研究的丰碑 [J]. *中草药*, 2016, 47(19): 3351-3361.
- [6] Feng X, Cao S, Qiu F, *et al.* Traditional application and modern pharmacological research of *Artemisia annua* L. [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 216: 107650.
- [7] Budhreja A, Turnis M E, Churchman M L, *et al.* Modulation of navitoclax sensitivity by dihydroartemisinin-mediated MCL-1 repression in BCR-ABL<sup>+</sup> B-lineage acute lymphoblastic leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(24): 7558-7568.
- [8] Hou L F, Huang H C. Immune suppressive properties of artemisinin family drugs [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 166: 123-127.
- [9] Rovin B H, Caster D J, Cattran D C, *et al.* Management and treatment of glomerular diseases (part 2): Conclusions from a kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) controversies conference [J]. *Kidney Int*, 2019, 95(2): 281-295.
- [10] Liang N, Zhong Y C, Zhou J, *et al.* Immunosuppressive effects of hydroxychloroquine and artemisinin combination therapy via the nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway in lupus nephritis mice [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(3): 2436-2442.
- [11] Wu X L, Zhang W G, Shi X M, *et al.* Therapeutic effect of artemisinin on lupus nephritis mice and its mechanisms [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2010, 42(12): 916-923.
- [12] Wu X L, Zhang W G, Shi X M, *et al.* Effect of artemisinin combined with glucocorticoid on the expressions of glucocorticoid receptor  $\alpha$  mRNA, glucocorticoid receptor  $\beta$  mRNA and P300/CBP protein in lupus nephritis mice [J]. *Chin J Integr Med*, 2011, 17(4): 277-282.
- [13] Al Heialy S, Gaudet M, Ramakrishnan R K, *et al.* Contribution of IL-17 in steroid hyporesponsiveness in obese asthmatics through dysregulation of glucocorticoid receptors  $\alpha$  and  $\beta$  [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1724.
- [14] Goodman R H, Smolik S. CBP/p300 in cell growth, transformation, and development [J]. *Genes Dev*, 2000,

- 14(13): 1553-1577.
- [15] Fox D, Man S M. DDX3X: Stressing the NLRP3 inflammasome [J]. *Cell Res*, 2019, 29(12): 969-970.
- [16] Afonina I S, Zhong Z Y, Karin M, et al. Limiting inflammation-the negative regulation of NF- $\kappa$ B and the NLRP3 inflammasome [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(8): 861-869.
- [17] Bai L X, Li J C, Li H L, et al. Renoprotective effects of artemisinin and hydroxychloroquine combination therapy on IgA nephropathy via suppressing NF- $\kappa$ B signaling and NLRP3 inflammasome activation by exosomes in rats [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 169: 113619.
- [18] Harabuchi Y, Takahara M. Recent advances in the immunological understanding of association between tonsil and immunoglobulin A nephropathy as a tonsil-induced autoimmune/inflammatory syndrome [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2019, 7(2): 86-93.
- [19] Wu Y W, He S J, Bai B X, et al. Therapeutic effects of the artemisinin analog SM934 on lupus-prone MRL/lpr mice via inhibition of TLR-triggered B-cell activation and plasma cell formation [J]. *Cell Mol Immunol*, 2016, 13(3): 379-390.
- [20] Fang H, Li Q Y, Wang G. The role of T cells in *Pemphigus vulgaris* and bullous pemphigoid [J]. *Autoimmun Rev*, 2020, 19(11): 102661.
- [21] Jin L W, Ye H Y, Xu X Y, et al. MiR-133a/133b inhibits Treg differentiation in IgA nephropathy through targeting FOXP3 [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2018, 101: 195-200.
- [22] Diefenhardt P, Nosko A, Kluger M A, et al. IL-10 receptor signaling empowers regulatory T cells to control Th17 responses and protect from GN [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(7): 1825-1837.
- [23] Bai L X, Li H L, Li J C, et al. Immunosuppressive effect of artemisinin and hydroxychloroquine combination therapy on IgA nephropathy via regulating the differentiation of CD4<sup>+</sup> T cell subsets in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 70: 313-323.
- [24] Li J, Casteels T, Frogne T, et al. Artemisinins target GABAA receptor signaling and impair  $\alpha$  cell identity [J]. *Cell*, 2017, 168(1/2): 86-100.e15.
- [25] Xiang M, Chen Z H, He L P, et al. Transcription profiling of artemisinin-treated diabetic nephropathy rats using high-throughput sequencing [J]. *Life Sci*, 2019, 219: 353-363.
- [26] Singh D K, Winocour P, Farrington K. Oxidative stress in early diabetic nephropathy: Fueling the fire [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2011, 7(3): 176-184.
- [27] Zhang H S, Qi S M, Song Y C, et al. Artemisinin attenuates early renal damage on diabetic nephropathy rats through suppressing TGF- $\beta$ 1 regulator and activating the Nrf2 signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2020, 256: 117966.
- [28] Zangari J, Petrelli F, Maillot B, et al. The multifaceted pyruvate metabolism: Role of the mitochondrial pyruvate carrier [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(7): 1068.
- [29] Koh E, Kim Y K, Shin D, et al. MPC1 is essential for PGC-1 $\alpha$ -induced mitochondrial respiration and biogenesis [J]. *Biochem J*, 2018, 475(10): 1687-1699.
- [30] Han P, Wang Y, Zhan H, et al. Artemether ameliorates type 2 diabetic kidney disease by increasing mitochondrial pyruvate carrier content in db/db mice [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(3): 1389-1402.
- [31] Reidy K, Kang H M, Hostetter T, et al. Molecular mechanisms of diabetic kidney disease [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(6): 2333-2340.
- [32] Vodošek Hojs N, Bevc S, Ekart R, et al. Oxidative stress markers in chronic kidney disease with emphasis on diabetic nephropathy [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(10): E925.
- [33] Brennan E P, Mohan M, Andrews D, et al. Specialized pro-resolving mediators in diabetes: Novel therapeutic strategies [J]. *Clin Sci*, 2019, 133(21): 2121-2141.
- [34] Sun Z Q, Ma Y L, Chen F, et al. Artesunate ameliorates high glucose-induced rat glomerular mesangial cell injury by suppressing the TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 inflammasome pathway [J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 293: 11-19.
- [35] 蒋姗姗, 龙艳, 苏珂, 等. 青蒿琥酯对高糖诱导的肾小管上皮细胞 TLR4、NF- $\kappa$ B 表达及合成的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(7): 904-908.
- [36] 蒋姗姗, 龙艳, 苏珂, 等. 青蒿琥酯对高糖诱导的肾小管上皮细胞凋亡及 TNF- $\alpha$ 、IL-8 表达的影响 [J]. 天津医药, 2015, 43(1): 20-24.
- [37] Luo W T, Oлару F, Miner J H, et al. Alternative pathway is essential for glomerular complement activation and proteinuria in a mouse model of membranous nephropathy [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1433.
- [38] Stangou M J, Marinaki S, Papachristou E, et al. Histological grading in primary membranous nephropathy is essential for clinical management and predicts outcome of patients [J]. *Histopathology*, 2019, 75(5): 660-671.
- [39] Li T T, Zhang X H, Jing J F, et al. Artemisinin analogue SM934 ameliorates the proteinuria and renal fibrosis in rat experimental membranous nephropathy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(2): 188-199.
- [40] LeBleu V S, Taduri G, O'Connell J, et al. Origin and function of myofibroblasts in kidney fibrosis [J]. *Nat Med*, 2013, 19(8): 1047-1053.

- [41] Zhou M Y, Ma H P, Lin H L, *et al.* Induction of epithelial-to-mesenchymal transition in proximal tubular epithelial cells on microfluidic devices [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(5): 1390-1401.
- [42] Meng X M, Nikolic-Paterson D J, Lan H Y. TGF- $\beta$ : The master regulator of fibrosis [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(6): 325-338.
- [43] Zhang B, Liu P, Zhou Y, *et al.* Dihydroartemisinin attenuates renal fibrosis through regulation of fibroblast proliferation and differentiation [J]. *Life Sci*, 2019, 223: 29-37.
- [44] Chapman H A, Wei Y, Montas G, *et al.* Reversal of TGF $\beta$ 1-driven profibrotic state in patients with pulmonary fibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(11): 1068-1070.
- [45] Jiang C, Tong Z, Fang W L, *et al.* MicroRNA-139-5p inhibits epithelial-mesenchymal transition and fibrosis in post-menopausal women with interstitial cystitis by targeting LPAR4 via the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(8): 6429-6441.
- [46] Cao Q, Harris D C, Wang Y P. Macrophages in kidney injury, inflammation, and fibrosis [J]. *Physiology*, 2015, 30(3): 183-194.
- [47] Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 821-832.
- [48] Wen Y, Pan M M, Lv L L, *et al.* Artemisinin attenuates tubulointerstitial inflammation and fibrosis via the NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathway in rats with 5/6 subtotal nephrectomy [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3): 4291-4300.
- [49] Liu D, Shu G F, Jin F Y, *et al.* ROS-responsive chitosan-SS31 prodrug for AKI therapy via rapid distribution in the kidney and long-term retention in the renal tubule [J]. *Sci Adv*, 2020, doi:10.1126/sciadv.abb7422.
- [50] Hoste E A, Bagshaw S M, Bellomo R, *et al.* Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: The multinational AKI-EPI study [J]. *Intensive Care Med*, 2015, 41(8): 1411-1423.
- [51] Baker R G, Hayden M S, Ghosh S. NF- $\kappa$ B, inflammation, and metabolic disease [J]. *Cell Metab*, 2011, 13(1): 11-22.
- [52] Perkins N D. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(1): 49-62.
- [53] Liu X, Lu J, Liao Y, *et al.* Dihydroartemisinin attenuates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by inhibiting inflammation and oxidative stress [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117: 109070.
- [54] Liu C X. Discovery and development of artemisinin and related compounds [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(2): 101-114.

[责任编辑 崔艳丽]