Global Science Publishing

青蒿琥酯对氢化可的松诱导的免疫抑制小鼠的保护作用

樊奕姮，李雯莹，贺丹，张思璐，张瑜，唐柳，刘子怡，王月
陕西国际商贸学院药学院，陕西咸阳

DOI:10.62836/medicine.v3i5.1525

摘要：目的：探究青蒿琥酯（AS）对氢化可的松（HC）诱导免疫抑制小鼠的保护效应。方法：60只BALB/c小鼠分为空白组、模型组、左旋咪唑阳性组及AS低、中、高剂量组，HC隔日肌注造模，同步灌胃给药14d，检测免疫相关指标及胸腺、脾脏病理改变。结果：AS可剂量依赖性改善小鼠状态，回升免疫器官指数、白细胞、吞噬功能、体液与细胞免疫指标及IL-2、IFN-γ、TNF-α水平，减轻免疫器官淋巴细胞萎缩，高剂量效果与阳性药相近。结论：AS可改善HC诱导的小鼠免疫抑制，在多层面提升免疫功能，机制或与调控TLR4/NF-κB通路相关。

关键词：青蒿琥酯；氢化可的松；免疫抑制；免疫器官指数

Protective Effect of Artesunate on Hydrocortisone-Induced Immunosuppressed Mice

Yiheng Fan, Wenying Li, Dan He, Silu Zhang, Yu Zhang, Liu Tang, Ziyi Liu, Yue Wang
Shaanxi University of International Trade & Commerce, Xianyang, Shaanxi

Abstract: Objective: To investigate the protective effects of artesunate (AS) in mice with hydrocortisone (HC)-induced immunosuppression. Methods: Sixty BALB/c mice were divided into a control group, a model group, a levamisole-positive control group, and AS treatment groups at low, medium, and high doses. The HC-induced model was established via intramuscular injection every other day, followed by concurrent oral administration for 14 days. Immunological parameters and pathological changes in the thymus and spleen were then assessed. Results: AS improved the overall condition of the mice in a dose-dependent manner, restoring the immune organ index, leukocyte count, phagocytic function, humoral and cellular immune parameters, as well as the levels of IL-2, IFN-γ, and TNF-α. It also alleviated lymphocyte atrophy in the immune organs, with the high-dose group exhibiting effects comparable to those of the positive control group. Conclusion: AS ameliorates HC-induced immunosuppression in mice by enhancing immune function at multiple levels, and this effect may be mediated through modulation of the TLR4/NF-κB signaling pathway.

Keywords: artesunate; hydrocortisone; immunosuppression; immune organ index

*基金项目:2025年国家级大学生创新训练项目“青蒿琥酯对糖皮质激素诱导的免疫抑制模型小鼠的保护作用”（项目编号：202513123006）。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

青蒿琥酯原料药（纯度≥99%）、氢化可的松琥珀酸钠、盐酸左旋咪唑为受试与阳性对照药物；ConA、MTT、RPMI-1640培养基、胎牛血清购自商用试剂公司，小鼠IL-2、IFN-γ、TNF-α ELISA试剂盒用于细胞因子检测，印度墨汁、绵羊红细胞等由实验室自制，其余试剂为国产分析纯[1]。

1.2 实验动物

60只SPF级雄性BALB/c小鼠，6～8周龄，体质量18～22 g，饲养于恒温恒湿、12 h光暗循环环境，自由摄食饮水。动物实验方案已通过学校动物伦理委员会审批。

1.3 主要仪器

配备紫外分光光度计、酶标仪、CO_2培养箱、超净工作台、高速冷冻离心机、电子天平、千分尺及光学显微镜，满足免疫指标检测与组织观察需求。

1.4 分组、造模与给药

小鼠适应饲养7d后随机分为6组，每组10只：空白组、模型组、左旋咪唑阳性组及青蒿琥酯低、中、高剂量组。除空白组外，其余小鼠隔日肌注氢化可的松琥珀酸钠40mg/kg，共5次建立免疫抑制模型；各组同步灌胃给药14d，空白与模型组给予溶媒对照。末次给药24h后禁食12h，开展指标检测（见**表1**）。

1.5 指标测定

1.5.1 一般状态与体质量

实验期间每日观察各组小鼠毛发光泽度、精神状态、活动度及摄食情况，于给药第0、7、14天晨称量体质量，计算体质量增长量（末次体质量－初始体质量）。

1.5.2 免疫器官指数与外周血白细胞计数

末次给药24 h后，小鼠摘眼球取血后颈椎脱臼处死，无菌摘取胸腺、脾脏，剔除周围结缔组织后用滤纸吸去表面血液，称量湿重（精确至0.1mg）。免疫器官指数（mg/g）＝器官湿重（mg）/体质量（g）。另于处死前经尾静脉采集外周血20 μL，加入0.38 mL白细胞稀释液中混匀，血细胞计数板镜下计数，计算每升血液中白细胞数目[2]。

1.5.3 碳粒廓清试验

按文献[3]方法，末次给药30min后，各组小鼠经尾静脉注射印度墨汁生理盐水稀释液（1∶5）0.1mL/10g，于注射后2min（t_1）和10min（t_2）分别从眶后静脉丛取血20 μL，立即溶于2mL 0.1% Na_2CO_3溶液中摇匀，于650nm处测定吸光度（OD_1、OD_2），以Na_2CO_3溶液为空白对照。取血后处死小鼠，剖取肝脏、脾脏称重。廓清指数K＝（$lgOD_1$－$lgOD_2$）/（t_2－t_1）；吞噬指数α＝体质量/（肝重＋脾重）×K^(3/1)。

1.5.4 血清溶血素测定

给药第7天，各组小鼠腹腔注射2% SRBC 0.2 mL/只进行免疫。第14天摘眼球取血，分离血清，用生理盐水稀释200倍。取稀释血清1mL，依次加入10% SRBC悬液0.5mL及1∶10稀释豚鼠补体1 mL，混匀后37℃水浴30min，冰浴终止反应，2 000 r/min离心10min，取上清于540nm处测定吸光度。以不加血清的对照管调零，按半数溶血值（HC50）公式

表1. 动物实验分组与给药方案

组别	n	肌内注射	灌胃剂量/(mg/kg)
空白对照组（NC）	10	生理盐水	—（等体积CMC-Na）
模型组（MC）	10	氢化可的松40	—（等体积CMC-Na）
阳性对照组（PC）	10	氢化可的松40	盐酸左旋咪唑10
AS低剂量组（AS-L）	10	氢化可的松40	青蒿琥酯25
AS中剂量组（AS-M）	10	氢化可的松40	青蒿琥酯50
AS高剂量组（AS-H）	10	氢化可的松40	青蒿琥酯100

计算血清溶血素水平[4]。

1.5.5 迟发型超敏反应（DTH）

同1.5.4项下SRBC免疫后第4天，各组小鼠右后足跖皮下注射20% SRBC 20 μL进行攻击，左后足跖注射等体积生理盐水作为对照。24 h后处死小鼠，沿关节线剪下双足，同一部位称重，足跖肿胀度（mg）＝右足重－左足重。

1.5.6 脾淋巴细胞转化试验

采用MTT法。无菌制备脾细胞悬液，Hank液洗涤2次后用含10% FBS的RPMI-1640完全培养基调整细胞密度至5×10^6/mL，接种于96孔板，每孔100μL，随后分别加入ConA（终浓度5 μg/mL）或等体积培养基100μL，每个样本设3个复孔，置37℃、5% CO_2培养箱培养44h，每孔加入5mg/mL MTT溶液10μL，继续培养4h，吸弃上清后加入酸性异丙醇100μL溶解甲臜颗粒，于570nm处测定吸光度。刺激指数（SI）＝ConA刺激孔OD值/对照孔OD值[3]。

1.5.7 血清细胞因子测定

分离血清，严格按ELISA试剂盒说明书操作，测定血清IL-2、IFN-γ、TNF-α水平。

1.5.8 组织病理学观察

取各组小鼠胸腺、脾脏，置于4%多聚甲醛溶液中固定24h，经脱水、石蜡包埋后制成5 μm切片，苏木精-伊红（HE）染色，光学显微镜下观察组织形态学变化。

1.6 统计学处理

数据经SPSS 26.0软件处理，结果以均数±标准差表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用LSD法，P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对一般状态与体质量的影响

NC组小鼠毛发有光泽、反应灵敏、活动正常，体质量稳步增长；MC组自首次注射HC后逐渐出现精神萎靡、拱背蜷缩、被毛干枯无光泽、摄食减少等表现，14d内体质量仅增长2.6g，明显低于NC组（8.2g）。各给药组一般状态随剂量升高逐步改善，体质量增长量分别为4.3、5.9、7.4g，呈剂量依赖性，高剂量组与PC组（6.9g）接近（**图1**A）。此外，MC组小鼠胸腺、脾脏肉眼观体积缩小、色泽暗淡，AS-H组脏器外观基本接近NC组，仅从脏器形态即可初步判断AS的干预效果[5]。

2.2 对免疫器官指数与外周血白细胞计数的影响

由**图1**B、**图2**和**表2**可见，与NC组比较，MC组胸腺指数、脾脏指数和外周血白细胞计数均显著降低（P<0.05），下降幅度分别达60.8%、41.7%和49.5%，表明HC诱导的免疫抑制模型构建成功。与MC组比较，AS各剂量组胸腺指数、脾脏指数和白

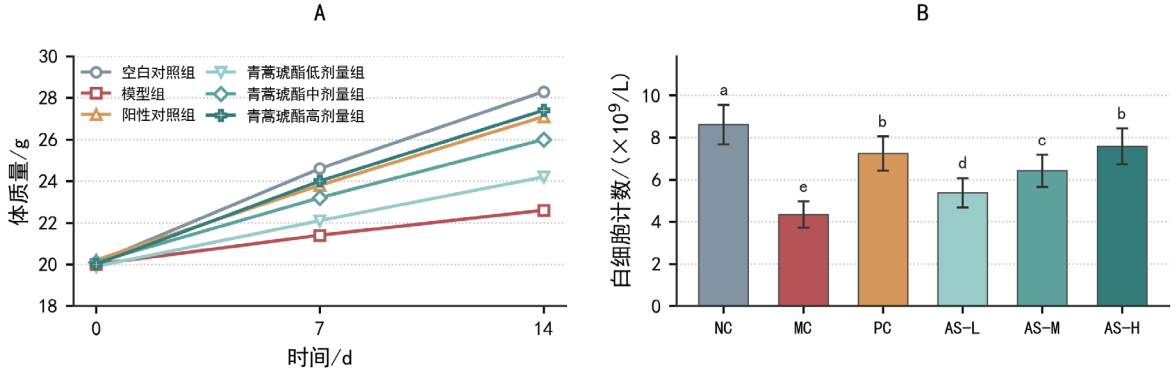


图1. 青蒿琥酯对免疫抑制小鼠体质量及外周血白细胞计数的影响（$\bar{x}\pm s$，n=10；不同小写字母表示组间P<0.05，下同）

细胞计数显著升高（P<0.05），并呈剂量依赖性，其中高剂量组三项指标分别为（2.54±0.28）mg/g、（4.86±0.47）mg/g和（7.58±0.85）×10⁹/L，与PC组（2.31±0.26）mg/g、（4.68±0.45）mg/g和（7.24±0.81）×10⁹/L相当或略优，组间差异无统计学意义（P＞0.05）。

2.3 对单核-巨噬细胞吞噬功能的影响

由**图3**和**表2**可见，MC组碳粒廓清指数K和吞噬指数α较NC组分别降低55.4%和47.1%（P<0.05），提示HC明显抑制小鼠单核-巨噬细胞系统的非特异性吞噬功能。AS各剂量组K值和α值随剂量升高依次递增（P<0.05），高剂量组K值为0.0421±0.0049、α值为5.42±0.56，均恢复至NC组的87%以上，与PC组差异无统计学意义（P＞0.05）。

2.4 对体液免疫与细胞免疫功能的影响

结果见**图4**和**表3**。与NC组比较，MC组血

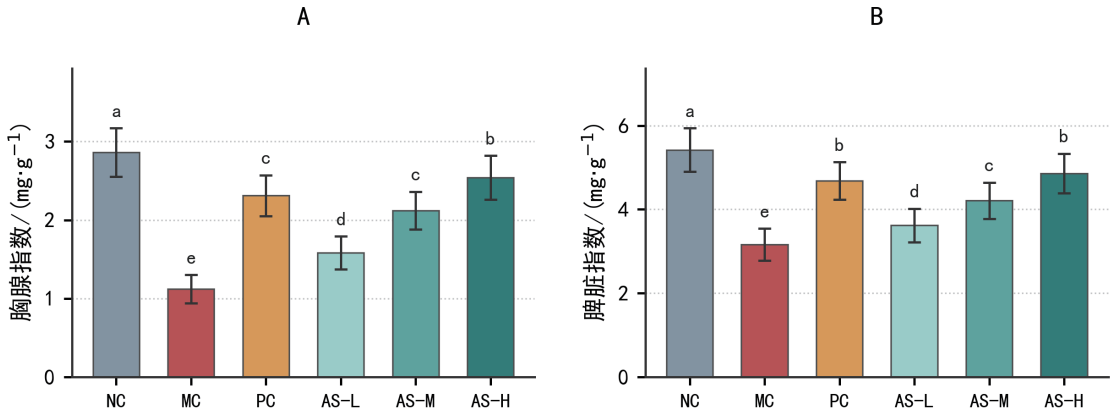


图2. 青蒿琥酯对免疫抑制小鼠免疫器官指数的影响

表2. 青蒿琥酯对免疫抑制小鼠免疫器官指数、白细胞计数及吞噬功能的影响（$\bar{x}$±s，n=10）

组别	胸腺指数/(mg/g)	脾脏指数/(mg/g)	白细胞/(×10⁹/L)	廓清指数K	吞噬指数α
NC	2.86±0.31a	5.42±0.52a	8.62±0.94a	0.0482±0.0052a	6.12±0.58a
MC	1.12±0.18e	3.16±0.38e	4.35±0.62e	0.0215±0.0038e	3.24±0.42e
PC	2.31±0.26c	4.68±0.45b	7.24±0.81b	0.0406±0.0048b	5.36±0.54b
AS-L	1.58±0.21d	3.62±0.40d	5.38±0.70d	0.0278±0.0041d	3.86±0.46d
AS-M	2.12±0.24c	4.21±0.43c	6.42±0.76c	0.0345±0.0045c	4.54±0.50c
AS-H	2.54±0.28b	4.86±0.47b	7.58±0.85b	0.0421±0.0049b	5.42±0.56b

注：廓清指数K与吞噬指数α均为无量纲计算值；表中数据后不同小写字母表示组间P<0.05，**表3**、**表4**同。

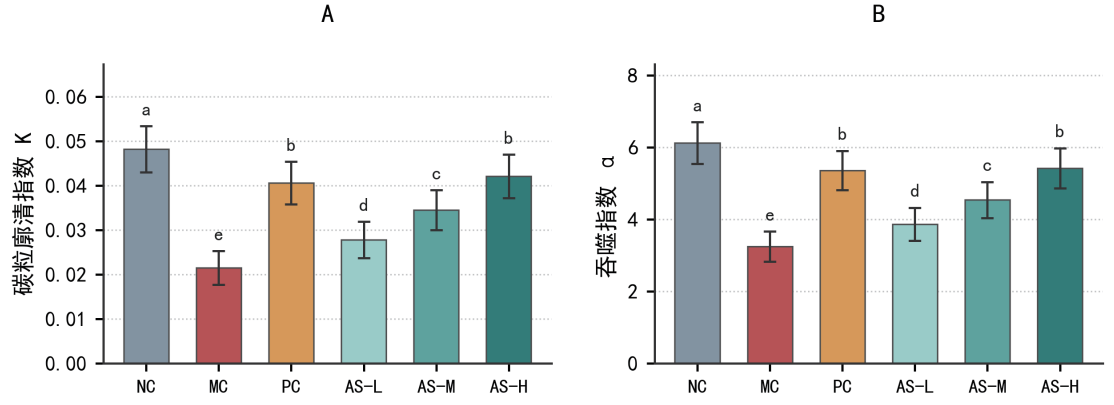


图3. 青蒿琥酯对免疫抑制小鼠碳粒廓清指数及吞噬指数的影响

清HC50、足跖肿胀度和脾淋巴细胞转化指数SI均显著降低（P<0.05），表明HC同时抑制小鼠的体液免疫和细胞免疫功能。与MC组比较，AS各剂量组三项指标均显著升高（P<0.05），高剂量组HC50（168.3±16.8）、足跖肿胀度（10.8±1.7）mg和SI（1.72±0.17）已超过PC组（164.8±16.8、10.4±1.6、1.68±0.16），与NC组差异无统计学意义（P＞0.05），提示高剂量AS可基本恢复模型小鼠的体液免疫与细胞免疫功能。

2.5 对血清细胞因子水平的影响

结果见**图5**和**表4**。MC组血清IL-2、IFN-γ、TNF-α水平较NC组分别降低42.9%、45.0%和44.2%（P<0.05），呈明显的Th1类细胞因子低分泌状态。AS各剂量组三种细胞因子水平均呈剂量依赖性回升（P<0.05），高剂量组IL-2、IFN-γ、TNF-α分别为（155.8±14.8）、（131.7±12.9）、（84.2±8.4）pg/mL，后两者已显著超过PC组

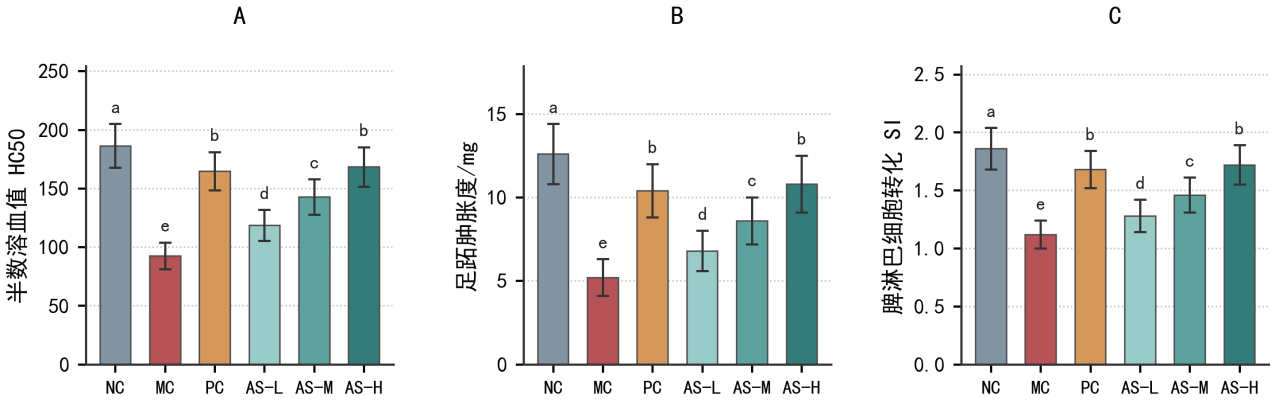


图4. 青蒿琥酯对免疫抑制小鼠体液免疫与细胞免疫功能的影响

表3. 青蒿琥酯对免疫抑制小鼠体液免疫、细胞免疫及血清细胞因子的影响（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别	HC50	足跖肿胀度/mg	淋巴细胞转化SI	IL-2/(pg·mL⁻¹)	IFN-γ/(pg·mL⁻¹)
NC	186.4±18.6a	12.6±1.8a	1.86±0.18a	168.4±15.6a	142.6±13.4a
MC	92.6±11.4e	5.2±1.1e	1.12±0.12e	96.2±10.8e	78.4±9.2e
PC	164.8±16.2b	10.4±1.6b	1.68±0.16b	152.7±14.2b	128.5±12.6b
AS-L	118.5±13.2d	6.8±1.2d	1.28±0.14d	118.6±12.4d	96.8±10.8d
AS-M	142.6±15.1c	8.6±1.4c	1.46±0.15c	136.5±13.6c	114.2±11.6c
AS-H	168.3±16.8b	10.8±1.7b	1.72±0.17b	155.8±14.8b	131.7±12.9b

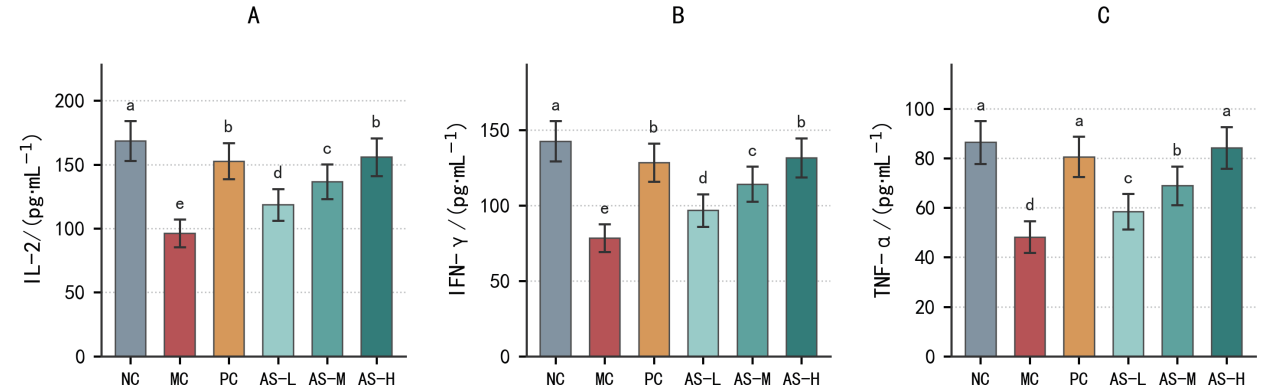


图5. 青蒿琥酯对免疫抑制小鼠血清IL-2、IFN-γ和TNF-α水平的影响

表4. 青蒿琥酯对免疫抑制小鼠血清细胞因子水平的影响（$\bar{x}$±s，n=10，pg/mL）

组别	IL-2	IFN-γ	TNF-α
NC	168.4±15.6a	142.6±13.4a	86.4±8.6a
MC	96.2±10.8e	78.4±9.2e	48.2±6.4d
PC	152.7±14.2b	128.5±12.6b	80.6±8.1a
AS-L	118.6±12.4d	96.8±10.8d	58.4±7.2c
AS-M	136.5±13.6c	114.2±11.6c	68.9±7.8b
AS-H	155.8±14.8b	131.7±12.9b	84.2±8.4a

（128.5±12.6）、（80.6±8.1）pg/mL（P<0.05），IL-2水平与PC组相当（P＞0.05），表明AS对HC所致的Th1类细胞因子分泌抑制具有显著的拮抗作用。从免疫学角度分析，IL-2与IFN-γ主要由Th1细胞及NK细胞分泌，是衡量细胞介导免疫的核心指标，二者同步恢复提示AS的免疫上调作用主要作用于Th1轴，与吞噬功能改善共同构成非特异性与特异性免疫协同恢复的模式。

2.6 组织病理学观察

HE染色结果显示：NC组胸腺皮质、髓质分界清晰，皮质区淋巴细胞密集丰满；MC组胸腺明显萎缩、皮质变薄，淋巴细胞数量显著减少、排列稀疏，髓质区相对扩大；AS-H组胸腺皮质厚度及淋巴细胞密度较MC组明显恢复，接近NC组。脾脏方面，NC组脾小结结构完整、生发中心明显；MC组白髓面积缩小、脾小结数量减少、生发中心不明显，红髓相对扩大；AS-H组脾小结数量与生发中心结构基本恢复，红白髓比例接近正常。病理学改善趋势与免疫器官指数的变化一致。

3 讨论

疫抑制多见于危重症、肿瘤放化疗及长期激素治疗人群，机体抗感染能力与疫苗应答下降，研发安全的免疫调节剂意义重大。氢化可的松（HC）是构建免疫抑制动物模型的经典药物，本研究隔日肌注HC 40 mg/kg共5次，成功建立稳定小鼠免疫抑制模型，模型组免疫器官指数、白细胞水平、吞噬功能、体液及细胞免疫指标均明显降低，和已有文献结果相符。

青蒿琥酯（AS）为青蒿素水溶性衍生物，除抗疟外，其免疫调节效应存在双向性：现有研究显示AS可抑制免疫过度活化，而本研究发现AS能够显著回升HC诱导抑制小鼠的各项免疫指标，提示其在免疫低下状态下发挥免疫上调作用。机制上，HC可上调GILZ并抑制TLR4/NF-κB通路，造成免疫损伤；AS可剂量依赖性改善碳粒廓清能力，恢复IL-2、IFN-γ等细胞因子分泌，胸腺、脾脏病理损伤同步缓解，推测其效应和解除该通路抑制、恢复免疫细胞活性相关。25～100mg/kg剂量下AS无明显毒副反应，高剂量效果接近或优于左旋咪唑。

本研究仍有不足，未开展NK细胞、Treg/Th17亚群及通路关键分子表达验证，仅采用HC单一造模方式。AS免疫上调效应呈剂量依赖，在该区间尚未达药效平台，后续需拓宽剂量梯度，并结合PK/PD、流式与蛋白印迹实验，明确其靶点与活性代谢物的作用规律。

4 结论

青蒿琥酯（25、50、100　mg/kg）能剂量依赖性地改善氢化可的松诱导的免疫抑制小鼠的一般状态，显著升高免疫器官指数与外周血白细胞计数，增强单核-巨噬细胞吞噬功能，促进体液免疫与细胞免疫应答，恢复Th1类细胞因子分泌，并明显减轻胸腺、脾脏的组织学损伤，高剂量组保护作用与盐酸左旋咪唑相当。结果提示青蒿琥酯对免疫抑制状态具有确切的保护作用，其机制可能与调控TLR4/NF-κB通路、恢复巨噬细胞与T淋巴细胞功能有关，可为青蒿琥酯在免疫低下相关疾病辅助治疗中的再利用提供实验依据。

参考文献

[1]李覃,陈虹,白淑芳,等.青蒿琥酯对迟发型超敏反应小鼠脾脏T淋巴细胞的免疫调节作用[J].中国组织工程研究,2012,16(5):843-846.

[2]匡梅,岑彦艳,覃容欣,等.青蒿琥酯对小鼠巨噬细胞RAW264.7中TLR4介导的炎症通路的抑制作用[J].免疫学杂志,2018,34(5):401-406.

[3]刘哲慧,张琳.水芹总黄酮对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J].中国中医药科技,2016,23(4):423-425.

[4]吕颖坚,黄俊明,蔡玟,等.环磷酰胺和氢化可的松建立免疫抑制模型方法比较[J].卫生研究,2012,41(6):951-955.

[5]汪艳.青蒿琥酯对氢化可的松诱导的免疫抑制小鼠模型的保护作用及其机制研究[D].遵义:遵义医科大学,2020.

Copyright © 2026 by author(s) and Global Science Publishing Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).
http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Open Access