

青蒿琥酯对小鼠巨细胞病毒性肺炎的治疗作用

王萍, 陈盛, 黄小桃, 肖小梅, 湛青平, 秦爱萍*, 余细勇*

(广州医科大学药学院, 广东省分子靶标与临床药理学重点实验室, 呼吸疾病国家重点实验室药理学组, 广东 广州 511436)

摘要: 为了探索青蒿琥酯对小鼠巨细胞病毒性肺炎的治疗作用及其机制, 应用滴鼻法建立携带绿色荧光蛋白的小鼠巨细胞病毒 (murine cytomegalovirus-green fluorescent protein, MCMV-GFP) 感染的巨细胞病毒性肺炎模型。动物福利和实验过程均遵循广州医科大学动物伦理委员会的规定。将 BALB/c-nu 小鼠随机分为 5 组: 空白对照组、巨细胞病毒性肺炎模型组、青蒿琥酯 60、120 和 240 mg·kg⁻¹ 组。观察小鼠生存期和肺组织病理变化, 并进一步进行分子机制研究。分别采用苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色法检测肺组织的病理变化; 荧光定量 PCR (polymerase chain reaction) 方法检测肺组织中 MCMV 主要即刻早期基因 1 (major immediate early 1, *Mie1*) mRNA 的表达; 免疫荧光法检测 MCMV-GFP 的表达; ELISA 法 (enzyme-linked immunosorbent assay) 检测肺上清炎症因子白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、IL-10 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 的含量; Western blot 法检测感染后肺组织 NF- κ B (nuclear factor- κ B) 通路的变化; 绘制小鼠体重变化和生存曲线图。结果显示, MCMV 感染模型组小鼠肺组织出现大量炎症细胞浸润, 肺组织结构破坏。青蒿琥酯 (120 mg·kg⁻¹) 治疗后的小鼠肺部炎症减轻, 肺泡结构明显好转。与 MCMV 感染模型组相比, 青蒿琥酯 (120 和 240 mg·kg⁻¹) 剂量组治疗后, 小鼠肺部病毒复制水平降低, 青蒿琥酯 (120 mg·kg⁻¹) 剂量组可显著降低促炎因子 IL-6 和 TNF- α 水平并增加抗炎因子 IL-10 的水平; 磷酸化 NF- κ B 蛋白表达明显下降, 治疗组小鼠体重增加, 生存期延长。上述结果表明, 青蒿琥酯具有抑制 MCMV 感染小鼠肺炎的作用, 通过抑制 NF- κ B 炎症信号通路的激活, 减轻肺组织炎症因子 IL-6 和 TNF- α 的释放, 并增加抗炎因子 IL-10 的表达, 从而实现减轻肺部组织炎症的作用。

关键词: 巨细胞病毒; 青蒿琥酯; 肺炎; 炎症因子; 信号通路

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)11-2651-06

Therapeutic effects of artesunate on cytomegalovirus pneumonia in mice

WANG Ping, CHEN Sheng, HUANG Xiao-tao, XIAO Xiao-mei,
ZHAN Qing-ping, QIN Ai-ping*, YU Xi-yong*

(Guangdong Key Laboratory of Molecular Target and Clinical Pharmacology, State Key Laboratory of Respiratory Diseases Pharmacology Group, School of Pharmaceutical Sciences of Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China)

Abstract: To investigate the therapeutic effect of artesunate on mouse cytomegalovirus pneumonia, the BALB/c-nu mice were infected with murine cytomegalovirus-green fluorescent protein (MCMV-GFP) by nose dropping method. The experimental protocol was approved by the Medical Laboratory Animal Ethics Committee of Guangzhou Medical University. The BALB/c-nu mice were randomly divided into five groups: control group, MCMV pneumonia group, and artesunate (60, 120, and 240 mg·kg⁻¹) groups. The survival rate, weights, and virus loads in lungs among the groups were observed. The degree of histopathologic changes in lungs was assessed directly by hematoxylin-eosin (HE) assay. MCMV-GFP expression was assessed by immunofluorescence. In addi-

收稿日期: 2020-03-27; 修回日期: 2020-05-27.

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (U1601227, 81330007); 广东省重大科技计划资助项目 (GD2015B020225006).

*通讯作者 Tel: 13724000603, E-mail: yuxycn@aliyun.com;

Tel: 13189159103, E-mail: qinaiping_2008@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-0421

tion, reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis was performed to investigate the content of major immediate early 1 (*Mie1*) mRNA, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the changes of inflammatory factors, interleukin 10 (IL-10), IL-6, and tumor necrosis factor- α (TNF- α). Western blot analysis was used to detect the expression of the changes of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) signaling pathways in total proteins. Compared with MCMV group, artesunate (120 mg·kg⁻¹) significantly increased body weights of MCMV-infected nude mice over 30 days, and decreased the viral titer in lung homogenate, lung inflammation, and histological severity. Moreover, the administration of artesunate (120 mg·kg⁻¹) could downregulate the expression of phospho-NF- κ B (p-NF- κ B) p65 in the lungs of mice. The present study suggested that artesunate can protect the immunocompromised mice from MCMV-induced interstitial pneumonia *via* downregulating NF- κ B signaling pathway, thus attenuating inflammation in the lungs.

Key words: cytomegalovirus; artesunate; pneumonia; inflammatory factor; signaling pathway

人类巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, HCMV) 属于疱疹病毒 β 亚家族,全长约 230 kb,是一种常见且重要的病原体,在人群中感染率较高。HCMV 具有与其他疱疹病毒类似的持续性感染和潜伏-活化的特性。在免疫功能健全的个体中, HCMV 的感染通常表现为隐性^[1]。然而,在免疫功能低下或免疫缺陷的个体中(例如移植受者),易出现 HCMV 再激活感染^[2],最常表现为间质性肺炎等^[3],损伤患者呼吸系统,最终导致死亡。

HCMV 感染后,此类患者需长期进行抗病毒防治,使得病毒耐药也日趋严重,目前临床常用的抗 HCMV 药物是更昔洛韦 (ganciclovir, GCV)、膦甲酸 (fosarnet, FOS) 和西多福韦 (cidofovir, CDV),三者作用模式类似,能够靶向病毒 DNA 聚合酶,在多个环节抑制病毒 DNA 的复制^[4]。但随着临床的广泛应用,骨髓抑制、肾脏损害^[5]等不良反应和耐药^[6]病毒株开始出现,并出现三者的交叉耐药,因此迫切需要开发不同作用机制的新一代药物来治疗 HCMV 感染。

青蒿琥酯 (artesunate, ART) 是一种衍生自天然产物青蒿素的半合成化合物,通常用于治疗严重疟疾。ART 和其衍生物在体外和体内均表现出多种抗病毒活性^[7]。Zeng 等^[8]研究发现 ART 对 HCMV 标准株及耐药株均有明显抗病毒效应。此外,青蒿琥酯还具有调节免疫的功能,可通过影响细胞因子,对百草枯所致的肺损伤大鼠的肺组织显示出保护作用^[9]。目前对于 ART 在抗 CMV 病毒感染方面的研究主要局限在体外及少数病例研究,对于其体内感染作用及肺组织损伤机制研究的相关报道较少。

巨细胞病毒物种基本上存在于所有哺乳动物宿主物种中,而不同种属的宿主之间具有不同的巨细胞病毒种类^[10],这导致巨细胞病毒之间存在严格的种属特异性^[11]。小鼠巨细胞病毒 (murine cytomegalovirus, MCMV) 感染小鼠模型是目前对于 HCMV 感染研究最多的动物模型,这主要是由于 MCMV 感染小鼠后所

引起的临床表现及相应的致病机制与 HCMV 感染后具有相似的特征。本实验室成功建立了 MCMV-GFP (green fluorescent protein) 感染小鼠肺炎模型。本研究主要探索青蒿琥酯对 MCMV 感染小鼠病毒性肺炎的作用,并进一步研究了其作用机制及主要参与的信号通路,为青蒿琥酯在临床的应用提供了理论基础。

材料与方法

实验动物 5~6 周龄 SPF (specific pathogen free) 级 BALB/c nude 小鼠 125 只,雌性 (广州晴乐有限公司)。生产许可证号 SCXK (京) 2019-0010,使用许可证号 SYXK (粤) 2016-0168。小鼠饲养于独立送风隔离笼具系统内。

试剂 小鼠 3T3 细胞 (美国 ATCC 细胞库); MCMV-GFP 病毒株由武汉病毒所 (罗敏华教授课题组) 提供; 青蒿琥酯 (广州鼎国有限公司,浓度 $\geq 99\%$); 小鼠白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、IL-10 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 的 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 试剂盒 (欣博盛生物制品有限公司); 红细胞裂解液 (英潍捷基有限公司); 两步法反转录试剂盒 (TaKaRa 公司); NF- κ B (nuclear factor- κ B) p65、phospho-NF- κ B p65 和 GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 抗体 (CST 公司); 辣根酶标记二抗 (中杉金桥公司); 引物 (广州擎科技术有限公司合成)。

仪器 Dmi8 荧光倒置显微镜 (德国 Leica 公司); LightCycler480II 荧光定量 PCR 仪 (瑞士 Roche 公司); 酶标仪 (德国 Berthold 公司); 凝胶电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); Amersham Imager 600 量化成像分析流式细胞仪 (美国 GE 公司); LSM880 超高分辨率激光共聚焦显微镜 (德国 ZEISS 公司)。

药物配制 称取 60 mg 青蒿琥酯,用适量 5% 碳酸氢钠将青蒿琥酯溶解,配置成 0.02 mol·L⁻¹ 浓度的贮备

液, 每只小鼠腹腔注射 0.2 mL, 按照体重加入蒸馏水稀释到所需终浓度 (60、120 和 240 mg·kg⁻¹)。将配好的药物溶液置 37 °C 水浴锅备用。

MCMV 感染小鼠肺炎模型制备及药效研究 将小鼠分为 5 组, 分别为空白对照组、MCMV 感染组和青蒿琥酯 (60、120 和 240 mg·kg⁻¹) 剂量组, 每组 15 只, 将各组小鼠用乙醚轻度麻醉, 空白对照组以 0.06 mL 生理盐水滴鼻, 其余各组以 0.06 mL 生理盐水溶解的 MCMV 病毒液滴鼻。于感染当天开始腹腔注射给药, 每只腹腔注射 0.2 mL, 隔天 1 次, 正常对照组、MCMV 感染组在同等条件下注射等量生理盐水。各组分别在感染后第 3、7 和 21 天摘眼球放血致死, 采集全肺, 取左肺大叶组织做肺组织石蜡切片, 右肺保存于 -80 °C 冰箱里用于后续实验。

小鼠体重变化图及生存曲线绘制 将小鼠随机分为 5 组, 分别为空白对照组、MCMV 感染组和青蒿琥酯 60、120 和 240 mg·kg⁻¹ 剂量组, 每组 10 只。按上述方法造模后, 隔天记录小鼠体重和存活等状况, 通过 GraphPad Prism 7.0 软件绘制生存曲线。

肺组织病理切片 取感染第 21 天的各组小鼠的左肺大叶组织, 于前、中、后切面各取 2 张进行 HE 染色, 于倒置荧光显微镜下观察肺部炎症情况。

免疫荧光检测肺组织病毒载量 取感染第 3 天的各组小鼠的左肺大叶组织石蜡切片, 避光操作, 0.3% Triton X-100 通透 5 min, 5% BSA (bovine serum albumin) 室温封闭 1 h, 再加入 GFP 一抗 (按 1:50 比例稀释), 4 °C 孵育过夜, PBS (phosphate buffered saline) 洗 3 次, 每次 10 min, 加入荧光二抗 (按 1:1 000 比例稀释), 室温避光孵育 1 h, PBS 洗 3 次, DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) 染色 5 min, PBS 洗 3 次, 滴加抗荧光淬灭剂, 于共聚焦显微镜下观察 GFP 荧光来检测病毒在肺部的表达情况。

荧光定量 PCR 检测肺部主要即刻早期基因 1 (major immediate early 1, *Mie1*) 的表达 各组取同等重量的右肺组织匀浆, 用 Trizol 法提取肺组织总 RNA,

利用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA, 进行荧光定量 PCR, 以 *Gapdh* 作为内参基因, 检测 *Mie1* 的表达。*Mie1* 引物: 上游 5'-TGAGGTGACCCGCATCCCAGTG-3', 下游 5'-CGAGGAGCAGTGCCAGAAGAAGC-3'; *Gapdh* 引物: 上游 5'-TGCACCACCAACTGCTTAGC-3', 下游 5'-GGCATGGACTGTGGT-CATGAG-3'。

ELISA 法检测炎症因子 收集各组小鼠肺组织匀浆上清, 于 4 °C、3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 收集上清, 于 -80 °C 保存。按 ELISA 试剂盒说明书检测炎症因子 IL-10、TNF- α 和 IL-6 的含量。

Western blot 法检测肺组织炎症信号通路 NF- κ B p65 取各组小鼠同等重量的右肺组织匀浆, 按照 20 mL·g⁻¹ 加入含 1 mg·L⁻¹ PMSF (phenylmethanesulfonyl fluoride) 的 RIPA (radio immunoprecipitation assay) 裂解液, 经过组织破碎机破碎 60 s 后, 4 °C、12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。取上清于 1.5 mL 离心管中, 通过 BCA (bicinchoninic acid) 法进行蛋白定量, 加入 5 \times SDS 上样缓冲液, 100 °C 煮沸 10 min 进行蛋白变性, 按照每孔 30 μ g 进行蛋白上样。

统计学处理 数据采用 GraphPad Prism 7 软件进行统计分析, 多组间比较采用单因素方差分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

结果

1 青蒿琥酯对 MCMV 感染小鼠体重及生存期的影响

由体重变化图及生存曲线图可以看出 (图 1), MCMV 感染 16 天后, 模型组小鼠体重呈现下降趋势, 在第 25 天开始出现死亡, 大部分小鼠在第 27 天左右死亡。青蒿琥酯给药后, 小鼠体重下降减缓, 死亡数较 MCMV 感染组降低, 存活天数增加, 生存期延长。在感染后第 40 天时, 根据生存曲线图可以看出, 青蒿琥酯 (120 mg·kg⁻¹) 剂量组的死亡保护作用优于青蒿琥酯 (60 和 240 mg·kg⁻¹) 剂量组。

2 青蒿琥酯对肺组织病理变化的影响

在感染后第 21 天, 进行小鼠肺部组织 HE 染色, 于

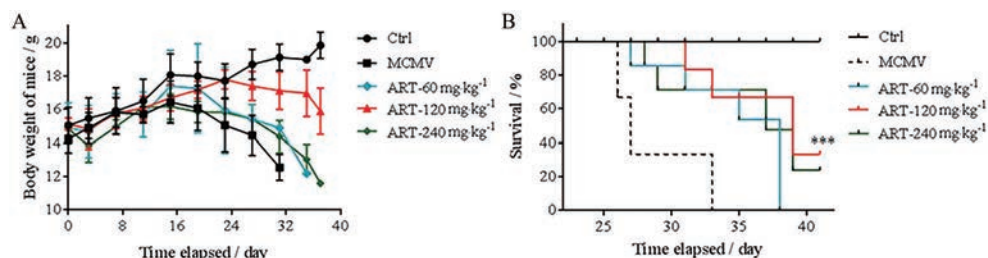


Figure 1 Effects of artesunate (ART) on weight and mortality of murine cytomegalovirus (MCMV) infected mice. A: Body weight change was monitored following infection for 40 days. Median with interquartile range of 10 mice per experimental group; B: Survival time of mice was recorded over 40 days. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$. *** $P < 0.001$ vs MCMV group. Ctrl: Control

光镜下观察发现,空白对照组小鼠肺组织结构完整,肺泡壁厚度正常,肺泡腔内无炎性细胞浸润。而MCMV感染组小鼠肺组织出现典型间质性肺炎特征,肺泡壁增宽,血管充血,有炎症细胞浸润,肺泡腔结构破坏。青蒿琥酯治疗组与MCMV感染模型组小鼠相比,肺组织病变有所改善,肺泡腔水肿及炎症减轻。青蒿琥酯($120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组对肺部炎症的改善效果优于青蒿琥酯(60 和 $240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组(图2)。

3 青蒿琥酯对MCMV感染小鼠肺部病毒复制的作用

正常小鼠未被感染时肺组织内无病毒载量表达;MCMV-GFP滴鼻法感染小鼠后,病毒在小鼠肺部组织细胞内复制并表达GFP荧光。对肺组织切片进行特异性GFP荧光染色,结果表明,与空白组相比,MCMV肺炎模型组GFP表达量明显上升;给予青蒿琥酯治疗,青蒿琥酯(120 和 $240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组在感染后各时间点病毒载量均显著低于同时间点MCMV模型组,肺部GFP荧光明显减少。与MCMV肺炎模型组相比,青蒿琥酯(120 和 $240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组的MCMV *Miel* mRNA的表达量明显降低,差异有统计学意义。以上实

验结果均提示青蒿琥酯可以抑制感染小鼠肺部MCMV的复制(图3)。

4 青蒿琥酯对MCMV感染小鼠肺部炎症因子的作用

MCMV感染小鼠肺组织后,肺部多种炎症细胞在肺组织聚集,释放多种炎症因子如IL-6和TNF- α 等炎症介质(图4)。在感染后第3天,与空白对照组相比,MCMV肺炎模型组肺上清中促炎因子IL-6和TNF- α 显著升高,IL-10分泌明显降低;与MCMV肺炎模型组相比,青蒿琥酯(120 和 $240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组IL-10分泌明显升高,对肺组织具有保护作用, $120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组的IL-6和TNF- α 水平明显低于同时间MCMV组,且感染后各时间点 $120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组的表达量均低于 120 和 $240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组,表明 $120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量对炎症因子具有更强的抑制作用。在感染后第7天,各组IL-6和TNF- α 水平无显著性差异。

5 青蒿琥酯抑制肺组织NF- κ B信号通路的激活

由图4可知,青蒿琥酯可以调控IL-6和TNF- α 炎症因子,这些炎症因子可以激活NF- κ B信号通路,造成肺损伤。由于青蒿琥酯(60 、 120 和 $240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量

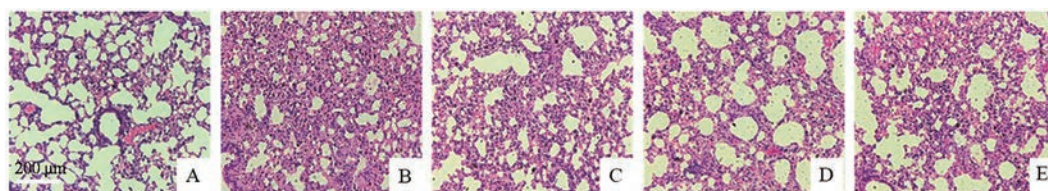


Figure 2 Hematoxylin-eosin (HE)-stained sections of MCMV infected-mice lungs at 21 days post-infection compared to the phosphate buffered saline (PBS)-infected mice lungs. A: Control group; B: MCMV group; C: ART group ($60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); D: ART group ($120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); E: ART group ($240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Scale bar: $200\text{ }\mu\text{m}$

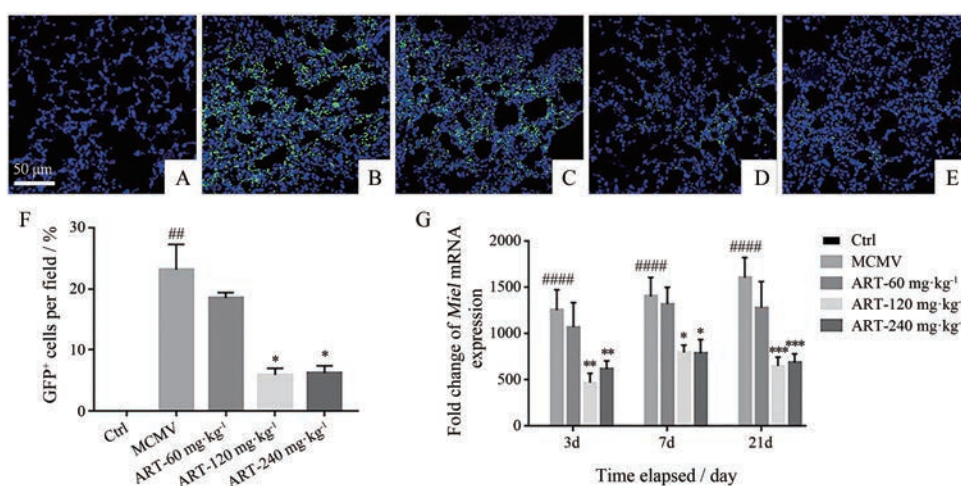


Figure 3 Effects of ART on MCMV replication in lung tissues. Mice were infected with MCMV-GFP. After treatment for 3 days with artesunate, lung sections were stained for MCMV-expressed GFP (green in the merge images). Nuclei were stained with DAPI (blue). Scale bar: $50\text{ }\mu\text{m}$. A: Control group; B: MCMV group; C: ART group ($60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); D: ART group ($120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); E: ART group ($240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); F: Immune fluorescence identification of mice lungs was analyzed; G: The expression of *Miel* mRNA in lung tissues of MCMV-infected mice. $n = 5$, $\bar{x} \pm s$. ^{##} $P < 0.01$, ^{####} $P < 0.0001$ vs control; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$ vs MCMV group. GFP: Green fluorescent protein; DAPI: 4',6-Diamidino-2-phenylindole; *Miel*: Major immediate early 1

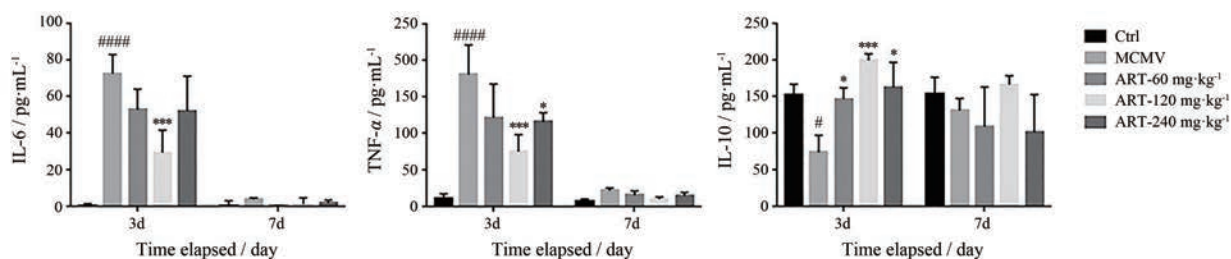


Figure 4 Effects of ART on inflammatory factors in lung tissues. The expression levels of interleukin 10 (IL-10), tumor necrosis factor α (TNF- α), and IL-6 in lung supernatants were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). $n = 5, \bar{x} \pm s$. # $P < 0.05$, ### $P < 0.0001$ vs control; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs MCMV group

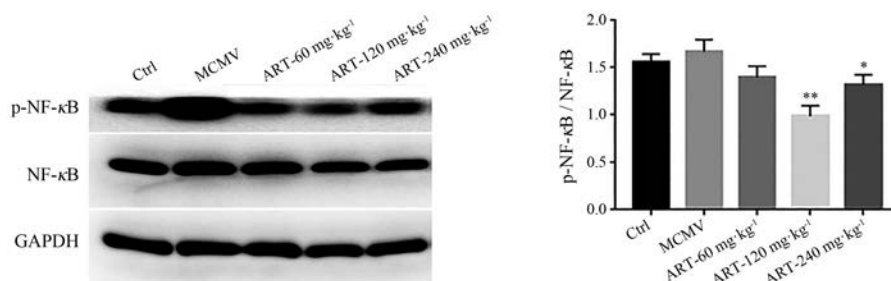


Figure 5 Expression of nuclear factor- κ B (NF- κ B) and phospho-NF- κ B (p-NF- κ B) in MCMV-infected mice lungs after ART treatment (60, 120, and 240 mg·kg⁻¹) were detected. Representative Western blot images of NF- κ B and p-NF- κ B were presented and analyzed. $n = 5, \bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs MCMV group. GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

组在感染后第7天对炎症因子的影响不显著, 本实验只选用感染第3天肺组织进行检测。通过 Western blot 方法检测炎症信号通路 NF- κ B 蛋白的表达, 结果发现, 与空白对照组相比, MCMV 模型组肺组织中 p-NF- κ B 蛋白表达明显升高; 青蒿琥酯处理后, 青蒿琥酯 (120 和 240 mg·kg⁻¹) 剂量组 p-NF- κ B 蛋白表达降低。青蒿琥酯可能通过抑制 NF- κ B 信号通路的激活, 减轻 MCMV 感染性肺炎 (图 5)。

讨论

HCMV 作为一种双链 DNA 病毒, 在免疫功能正常患者中无明显临床症状。在免疫缺陷的宿主中, HCMV 具有较高的致病力, 最终造成多种器官疾病^[12]。青蒿素类药物, 尤其是青蒿琥酯对双链 DNA 疱疹病毒具有强抑制作用。研究表明 HCMV 可以诱导宿主中 NF- κ B 和 Sp1 (specificity protein-1) 转录因子的 DNA 结合^[13]。此外, 青蒿琥酯在肺部疾病的研究中呈现多种药理效应, 其可通过影响细胞因子水平影响肺部炎症进程, 对肺组织显示出保护作用^[9]。青蒿琥酯的这些抗炎作用可能是通过抑制 NF- κ B 活性从而抑制辅助性 T (T helper, Th)-1 和 Th-17 细胞因子, 与干扰素- γ 和 TNF- α 表达水平密切相关。NF- κ B 是免疫和炎症反应的关键调节剂, IL-6、IL-10 和 TNF- α 等相关炎症因子在炎症中发挥重要作用, 细胞因子的转录表达可以由激活的

NF- κ B 调控^[14,15]。

本研究通过小鼠鼻腔滴入 MCMV 构建小鼠肺炎模型, 腹腔注射青蒿琥酯给药, 病理学结果显示, MCMV 感染的小鼠肺部出现间质性肺炎特征, 小鼠肺部病毒基因及 MCMV-GFP 蛋白表达均明显增加, 说明成功建立小鼠 MCMV 感染肺炎模型。在 MCMV 感染 3 天后发现, 使用不同浓度青蒿琥酯给药组处理后, 相关促炎因子 IL-6 和 TNF- α 降低, 抗炎因子 IL-10 升高; 相比青蒿琥酯 (60 和 240 mg·kg⁻¹) 剂量组, 青蒿琥酯 (120 mg·kg⁻¹) 剂量组效果最为明显, 肺泡充血明显减轻, 肺泡结构较完整。此外, 青蒿琥酯对 NF- κ B 信号通路的激活具有抑制作用, 青蒿琥酯 (120 mg·kg⁻¹) 剂量组明显降低 NF- κ B 的磷酸化。研究表明, 青蒿琥酯给药后小鼠肺部炎症均有改善, 生存期得到延长, 最终达到明显的抗病毒性肺炎的作用。

有研究证明, 在炎症早期, 巨噬细胞会极化为 M1 巨噬细胞, 可以释放多种趋化因子和炎症细胞因子, 而在炎症晚期巨噬细胞极化为 M2 巨噬细胞, 通过分泌高浓度抗炎因子 IL-10 来缓解炎症反应, 加速组织修复^[16]。青蒿琥酯调节炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-10 的表达, 其调节机制与 NF- κ B 信号通路有关, 这可能是通过减轻炎症细胞在肺内的聚集来发挥一定的抗炎作用。通过调节相关炎症信号通路及其伴随的炎症反应, 使机体的免疫功能得以恢复, 后续工作将对青蒿琥

酯抗炎的免疫调节机制进行深入研究。

作者贡献: 王萍负责实验设计、实验研究、采集与统计分析数据和文章撰写; 陈盛、黄小桃、肖小梅和湛青平负责实验研究和采集数据; 秦爱萍负责实验设计和指导, 对文章的知识性内容进行审阅; 余细勇负责指导和对文章的知识性内容进行审阅并提供研究经费。

利益冲突: 所有作者均声明没有利益冲突。

References

- [1] Lumbreras C, Manuel O, Len O, et al. Cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20: 19-26.
- [2] Naing ZW, Scott GM, Shand A, et al. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy: a review of prevalence, clinical features, diagnosis and prevention [J]. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2016, 56: 9-18.
- [3] Ebisutani C, Kawamura A, Shibata N, et al. Gastric ulcer associated with cytomegalovirus in an immunocompetent patient: method for diagnosis [J]. *Case Rep Gastroenterol*, 2012, 6: 365-368.
- [4] LI J, Liu XY, Zhan P. Advances in human cytomegalovirus inhibitors [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 585-596.
- [5] Mareri A, Lasorella S, Iapadre G, et al. Anti-viral therapy for congenital cytomegalovirus infection: pharmacokinetics, efficacy and side effects [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016, 29: 1657-1664.
- [6] Hakki M, Chou S. The biology of cytomegalovirus drug resistance [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2011, 24: 605-611.
- [7] Flobinus A, Taudon N, Desbordes M, et al. Stability and antiviral activity against human cytomegalovirus of artemisinin derivatives [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69: 34-40.
- [8] Zeng AH, Ouyang Y, Guo MM, et al. Antiviral activity research of artesunate against human cytomegalovirus by fractionation dosage method *in vitro* [J]. *Chin J Appl Clin Pediatr (中华实用儿科临床杂志)*, 2014, 29: 1703-1707.
- [9] Luo Q, Lin J. Research progress of artesunate in lung diseases [J]. *Chin J Respir Crit Care Med (中国呼吸与危重监护杂志)*, 2015, 14: 611-614.
- [10] Redwood AJ, Shellam GR, Smith LM. Molecular evolution of murine cytomegalovirus genomes [M] // Reddehase MJ. *Cytomegaloviruses: From Molecular Pathogenesis to Intervention (Vol.1)*. Norfolk: Caister Academic Press, 2013: 23-37.
- [11] Ostermann E, Pawletko K, Indenbirken D, et al. Stepwise adaptation of murine cytomegalovirus to cells of a foreign host for identification of host range determinants [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2015, 204: 461-469.
- [12] Boppana SB, Britt WJ. Synopsis of clinical aspects of human cytomegalovirus disease [M] // Reddehase MJ. *Cytomegaloviruses: From Molecular Pathogenesis to Intervention (Vol.2)*. Norfolk: Caister Academic Press, 2013: 1-25.
- [13] Schreiber A, Härter G, Schubert A, et al. Antiviral treatment of cytomegalovirus infection and resistant strains [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2009, 10: 191-209.
- [14] Suzuki A, Hanada T, Mitsuyama K, et al. CIS3/SOCS3/SSI3 plays a negative regulatory role in STAT3 activation and intestinal inflammation [J]. *J Exp Med*, 2001, 193: 471-481.
- [15] Kim SJ, Kim HM. Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4/MD2 complex *via* LBP and CD14 [J]. *BMB Rep*, 2017, 50: 55-57.
- [16] Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 958-969.