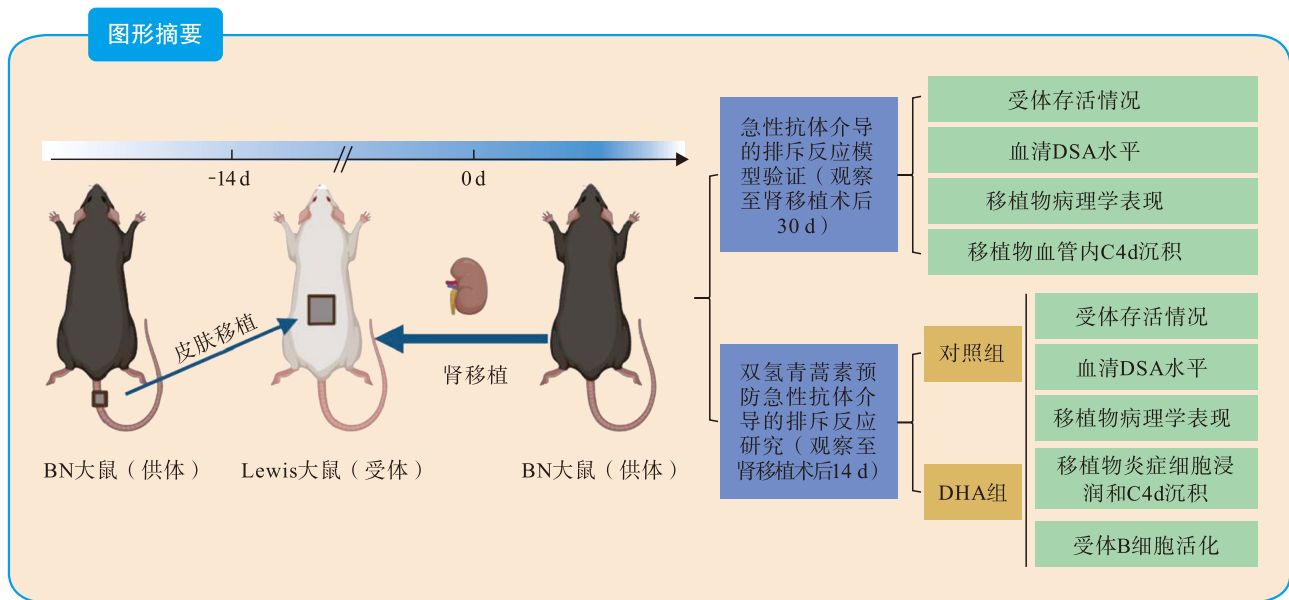


· 论著 ·

双氢青蒿素通过免疫抑制作用有效预防大鼠肾移植急性抗体介导的排斥反应

张薇 张洋 马茂林 江韦辰 韩飞 罗晨芳



【摘要】 目的 建立大鼠肾移植急性抗体介导的排斥反应（AMR）模型并探究双氢青蒿素（DHA）对急性AMR的预防效果。**方法** 以BN和Lewis大鼠分别作为供体和受体，在皮肤移植2周预致敏后行肾移植。大鼠肾移植急性AMR模型构建实验后，受体大鼠分组为同基因肾移植组（6只）、异基因肾移植组（6只）、同基因皮肤移植后肾移植组（12只）及异基因皮肤移植后肾移植组（24只）；探究DHA对急性AMR预防效果实验分组为对照组（异基因皮肤移植后肾移植）和DHA组（异基因皮肤移植后肾移植+DHA），每组12只。从受体大鼠存活时间、血清供者特异性抗体（DSA）水平和移植物病理学改变鉴定是否为急性AMR模型。在此基础上检测DSA水平、移植肾病理学改变和外周血B细胞水平，评估DHA对急性AMR的预防效果。**结果** 与异基因肾移植组比较，皮肤移植预致敏显著缩短受体大鼠存活时间（ $P<0.01$ ）。与同基因皮肤移植后肾移植组比较，异基因皮肤移植后肾移植组皮肤移植术后7 d开始至肾移植术后5 d血清DSA-IgG水平均显著升高（ $P<0.01$ ），皮肤移植后7 d和14 d两个时间点时DSA-IgM水平均显著升高（均为 $P<0.01$ ），异基因皮肤移植后肾移植组移植肾从术后1 d开始即出现少量炎症细胞浸润、肾小管坏死、毛细管炎和C4d沉积，上述病理表现随着肾移植术后天数增加而加重，且术后3 d开始移植肾损伤明显，这些均符合急性AMR的特点。在建立急性AMR模型的基础上，DHA治疗显著延长受体大鼠存活时间（ $P<0.01$ ），降低血清DSA-IgG和DSA-IgM水平。DHA治疗后显著减

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2025186

基金项目：国家自然科学基金（82372193）；广东省自然科学基金（2021A1515010255）

作者单位：510000 广州，中山大学附属第三医院肾移植科（张薇、张洋、马茂林、江韦辰、韩飞），麻醉科（罗晨芳）

作者简介：张薇（ORCID 0009-0008-0118-5461），本科，研究方向为移植免疫，Email: 951651291@qq.com；张洋（0000-0003-3418-0612），硕士研究生，研究方向为移植免疫，Email: zhangy2577@mail2.sysu.edu.cn

通信作者：罗晨芳（ORCID 0000-0003-3742-271X），博士，主任医师，研究方向为围手术期肾损伤机制及防治，Email: luochenf@mail.sysu.edu.cn；韩飞（ORCID 0009-0000-8775-6633），博士，助理研究员，研究方向为移植免疫，Email: hanf23@mail.sysu.edu.cn

轻急性 AMR 的病理学表现, 包括移植肾损伤、炎症细胞浸润、毛细血管炎和肾小管坏死, 同时减少移植肾内 C4d 沉积、炎症细胞浸润以及降低外周血 CD19⁺B 细胞水平。**结论** 通过利用大鼠异基因皮肤移植 2 周预致敏后行肾移植, 成功建立急性 AMR 模型, 并发现 DHA 具有免疫抑制作用, 可有效预防急性 AMR, 为临床 AMR 的管理提供新策略。

【关键词】 双氢青蒿素; 免疫抑制; 肾移植; 抗体介导的排斥反应; 供者特异性抗体; 皮肤移植; 毛细血管炎; 自身免疫性疾病

【中图分类号】 R617, R692 【文献标志码】 A 【文章编号】 1674-7445 (2025) 06-0015-08

Dihydroartemisinin effectively prevents acute antibody-mediated rejection in rat kidney transplantation through immunosuppressive effects Zhang Wei*, Zhang Yang, Ma Maolin, Jiang Weichen, Han Fei, Luo Chenfang. *Department of

Kidney Transplantation, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510000, China

Corresponding authors: Luo Chenfang, Email: luochenf@mail.sysu.edu.cn

Han Fei, Email: hanf23@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 **Objective** To establish a rat model of acute antibody-mediated rejection (AMR) in kidney transplantation and investigate the preventive effect of dihydroartemisinin (DHA) on acute AMR. **Methods** BN rats were used as donors and Lewis rats as recipients. Kidney transplantation was performed 2 weeks after skin transplantation for sensitization. After establishing the acute AMR model in rat kidney transplantation, the recipients of experimental groups included the syngeneic kidney transplantation group (6 rats), the allogeneic kidney transplantation group (6 rats), the syngeneic skin transplantation followed by kidney transplantation group (12 rats), and the allogeneic skin transplantation followed by kidney transplantation group (24 rats). The groups for investigating the preventive effect of DHA on acute AMR included the control group (allogeneic skin transplantation followed by kidney transplantation) and the DHA group (allogeneic skin transplantation followed by kidney transplantation + DHA), with 12 rats in each group. The survival time of recipient rats, serum donor-specific antibody (DSA) levels and graft pathological changes were used to identify the acute AMR model. On this basis, DSA levels, pathological changes in the transplant kidneys and peripheral blood B-cell levels were detected to assess the preventive effect of DHA on acute AMR. **Results** Compared with the allogeneic kidney transplantation group, skin transplantation sensitization significantly shortened the survival time of recipient rats ($P < 0.01$). Compared with the syngeneic skin transplantation followed by kidney transplantation group, the allogeneic skin transplantation followed by kidney transplantation group showed significantly elevated serum DSA-IgG levels from 7 days after skin transplantation to 5 days after kidney transplantation ($P < 0.01$), and significantly elevated DSA-IgM levels at 7 and 14 days after skin transplantation (all $P < 0.01$). The transplant kidneys in the allogeneic skin transplantation followed by kidney transplantation group showed a small number of inflammatory cell infiltrations, tubular necrosis, capillaritis, and C4d deposition starting from 1 day after kidney transplantation, with these pathological changes worsening as the post-transplantation days increased. The kidney damage became significant starting from 3 days after transplantation. The above pathology manifestations were consistent with the characteristics of acute AMR. On the basis of establishing the acute AMR model, DHA treatment significantly prolonged the survival time of recipient rats ($P < 0.01$), and reduced serum DSA-IgG and DSA-IgM levels. DHA treatment significantly alleviated the pathological manifestations of acute AMR, including kidney damage, inflammatory cell infiltration, capillaritis and tubular necrosis, and also reduced C4d deposition in the transplant kidneys, inflammatory cell infiltration and peripheral blood CD19⁺ B-cell levels. **Conclusions** An acute AMR model is established by performing kidney transplantation 2 weeks after allogeneic skin transplantation in rats. It is discovered that DHA has immunosuppressive effects and may effectively prevent acute AMR, which provides a new strategy for the management of clinical AMR.

【Key words】 Dihydroartemisinin; Immunosuppression; Kidney transplantation; Antibody-mediated rejection; Donor specific antibody; Skin transplantation; Capillaritis; Autoimmune disease

器官移植是 20 世纪医学发展中最引人瞩目的成果之一, 经过半个世纪的临床实践, 已经成为治疗各种器官衰竭的有效手段, 其中肾移植是治疗终末期肾病的首选方法^[1]。移植术后受者免疫系统对移植物的排斥反应是移植领域面临的重要难题。临床上常见的

排斥反应类型主要为急性排斥反应和慢性排斥反应。急性排斥反应可以分为急性 T 细胞介导的排斥反应和急性抗体介导的排斥反应 (antibody-mediated rejection, AMR)^[2-3]。近年来, 随着对排斥反应机制的深入研究和对各种免疫抑制药的开发和应用, 移植肾短期存

活率得到显著提高, 5 年存活率 >95%, 然而远期存活结果仍不理想, 10 年存活率仅有 50%^[4]。有研究表明, 在所有导致移植肾失功的原因中, AMR 占 64%^[5]。其中急性 AMR 发病迅速、病情进展快、防治效果差, 可短时间内导致移植物失功。

目前普遍认为, 急性 AMR 是由于受者相对免疫抑制不足, 在移植物抗原 (主要是主要组织相容性复合体) 刺激下 B 细胞激活分泌供者特异性抗体 (donor specific antibody, DSA) 所致^[6-7]。产生的 DSA 进一步与移植物血管内皮细胞结合, 通过经典途径激活补体系统形成膜攻击复合物损伤细胞。补体激活过程中裂解片段 C4d 可以共价结合在移植物毛细血管内皮细胞表面。补体裂解产物 C3a、C5a 等趋化因子可以招募以巨噬细胞为主的炎症细胞浸润到移植物毛细血管内, 引起毛细血管炎, 损伤移植物^[8-12]。急性 AMR 的诊断主要依靠组织学 (毛细血管炎、肾小管坏死)、血清学 (血清 DSA 升高) 和免疫学 (移植物毛细血管内 C4d 沉积) 证据^[13-14]。目前针对急性 AMR 的临床干预主要围绕清除 DSA、抑制 B 细胞活化和抑制补体系统展开, 包括血浆置换、免疫吸附、CD20 单克隆抗体 (利妥昔单抗)、蛋白酶抑制剂 (硼替佐米)、补体抑制剂 (依库珠单抗) 和 IgG 降解酶 Ides, 但是这些措施的治疗效果总体欠佳, 且不良反应明显^[15-20]。因此, 临床上对急性 AMR 尤为重视, 其发生机制的探讨和防治新策略的研究对移植物预后至关重要。

青蒿素是一种具有过氧桥键结构的倍半萜类化合物, 其活性成分经结构修饰可生成多种衍生物, 其中双氢青蒿素 (dihydroartemisinin, DHA) 广泛应用于临床中, 以其显著的抗疟疾疗效闻名于世^[21-23]。近年来除了抗疟疾作用, 其广泛的免疫抑制功能也逐渐被重视, 特别是在自身免疫性疾病的干预呈现出突破性治疗前景^[24-28]。有研究表明, 青蒿素及其衍生物可显著抑制 T 细胞活化与增殖, 抑制辅助性 T 细胞 (T helper cell, Th) 向 Th1 和 Th17 细胞极化以及减少促炎因子干扰素- γ 和白细胞介素-17 的分泌^[29-31]。也有研究证实 DHA 可以通过抑制滤泡辅助性 T 细胞和 B 细胞活化, 从而减少致病性抗体的产生和有效防治系统性红斑狼疮^[32]。青蒿素还被证实可以减弱巨噬细胞的吞噬作用, 减少巨噬细胞对血管内皮细胞的附着, 从而减缓动脉粥样硬化性损伤^[33]。综上所述, 青蒿素及其衍生物对 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞均表现出抑制效果, 而这些免疫细胞均参与了急性 AMR 的

发生发展, 提示青蒿素及其衍生物有望成为防治急性 AMR 的潜在药物。本研究利用异基因大鼠皮肤移植 2 周预致敏后进行肾移植的方法建立急性 AMR 模型, 并从组织学、血清学和免疫学角度对该模型进行判定和分析, 并在此基础上进一步探究 DHA 对急性 AMR 的防治效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物和器材

成年雄性 Brown Norway (BN) 和 Lewis 大鼠 (200~250 g) 均购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 饲养于广州吉妮欧生物科技有限公司无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级饲养室, 所有动物操作均获得广州吉妮欧生物科技有限公司实验动物伦理委员会批准 (批号: JENNIO-IACUC-2024-A066)。

小动物气体麻醉系统购自南京卡尔文生物科技有限公司; 体视手术显微镜购自北京中天光正科技有限公司; CytExpert 流式细胞仪购自美国 Beckman 公司。抗 CD31 抗体、抗 CD68 抗体、抗 CD3 抗体均购自英国 Abcam 公司; 抗 C4d 抗体购自荷兰 Hycult Biotech 公司; 抗藻红蛋白-Dazzle-CD19 流式抗体购自美国 BioLegend 公司。

1.2 实验分组与手术方法

大鼠肾移植急性 AMR 模型构建实验分组: (1) 同基因肾移植组 (6 只, 用于观察受体存活时间), 以 Lewis 大鼠为供体和受体行肾移植模型; (2) 异基因肾移植组 (6 只, 用于观察受体存活时间), 以 BN 大鼠为供体, Lewis 大鼠为受体建肾移植模型; (3) 同基因皮肤移植后肾移植组 (12 只, 6 只用于观察受体存活时间, 6 只用于获取肾移植术后 5 d 移植肾样本), 以 Lewis 大鼠为供体和受体行皮肤移植预致敏 2 周后建肾移植模型; (4) 异基因皮肤移植后肾移植组 (24 只, 6 只用于观察受体存活时间, 18 只分别用于获取肾移植术后 1、3、5 d 移植肾样本), 以 BN 大鼠为供体, Lewis 大鼠为受体行皮肤移植预致敏 2 周后建肾移植模型。观察肾移植术后 1 个月内各组受体大鼠存活时间。

探究 DHA 对急性 AMR 预防效果实验分组 (每组 12 只, 6 只用于观察受体存活时间, 6 只用于获取肾移植术后 5 d 移植肾样本): (1) 对照组: 以 BN 大鼠为供体, Lewis 大鼠为受体行皮肤移植预致敏 2 周后行肾移植模型, 从皮肤移植术后 1 d 开始给

予腹腔注射溶剂玉米油 200 $\mu\text{L}/\text{d}$ 至受体死亡或者处死获取实验样本的时间点; (2) DHA 组: 以 BN 大鼠为供体, Lewis 大鼠为受体行皮肤移植预致敏 2 周后行肾移植模型, 从皮肤移植术后 1 d 开始给予腹腔注射 DHA 25 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ (配溶剂玉米油 200 μL) 至受体死亡或者处死获取实验样本的时间点。观察肾移植术后 2 周内各组受体大鼠存活时间。

大鼠手术操作均在 SPF 级操作间进行, 手术全程在小动物气体麻醉系统下采用异氟烷诱导及维持麻醉, 于体视手术显微镜下操作。皮肤移植: 从供体大鼠尾部获取大小约 2 $\text{cm}\times 2\text{cm}$ 的皮肤, 间断缝合移植于受体大鼠背部。肾移植: 供体大鼠麻醉后开腹, 分离左肾, 利用 4 $^{\circ}\text{C}$ 125 U/mL 肝素盐水充分灌注左肾后获取。其中, 左肾静脉靠近下腔静脉末端剪断, 左肾动脉靠近腹主动脉末端剪断。获取的供肾置于 0.5~1.0 mL 高渗枸橼酸盐嘌呤移植肾灌注保存液中并置于冰水混合物中保存。受体麻醉后开腹, 暴露和分离腹主动脉和下腔静脉后用血管阻断钳阻断。腹主动脉剪开口后与供肾动脉端侧吻合, 下腔静脉剪开口后与供肾静脉端侧吻合。动、静脉吻合完成后开放血流, 用棉签压迫吻合口止血, 观察移植肾供血情况。尿路重建采用 8-0 尼龙线连续吻合, 行供肾输尿管带供体膀胱瓣同受体膀胱顶全层连续吻合。完成肾移植术后切除受体大鼠自体双侧肾脏。手术全程小动物置于 36 $^{\circ}\text{C}$ 恒温手术台, 术后每日观察受体大鼠精神状态和存活情况。

1.3 研究内容与方法

1.3.1 存活率分析 观察肾移植术后 1 个月或 2 周内各组受体大鼠存活时间。以受体大鼠死亡为观察终点, 记录每组受体大鼠存活时间并计算存活率。

1.3.2 DSA 水平检测 于皮肤移植术后 0、3、7、14 d 以及肾移植术后 1、3、5 d 获取血液标本, 离心后获取血清保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。将受体血清用磷酸缓冲盐溶液稀释 25 倍后与供体大鼠脾脏细胞在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下共孵育 30 min。细胞洗涤后分别与荧光素异硫氰酸酯-IgG 抗体和藻蓝蛋白-IgM 抗体在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下共孵育 1 h。细胞洗涤后用磷酸缓冲盐溶液重悬细胞浓度至 $5\times 10^6/\text{mL}$, 通过流式细胞仪检测受体血清 DSA-IgG 和 DSA-IgM 水平。

1.3.3 移植肾病理学检测 分别在肾移植术后 1、3、5 d 处死受体大鼠, 获取移植肾样本后切取一半肾脏立即放入 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 再逐步放入不同浓度乙醇中去除水分。二甲苯透明化组织后放入融化

的石蜡中浸泡, 使用切片机将石蜡包埋的组织切成 2 μm 的薄片。将制备好的肾组织切片进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色和糖原染色, 免疫组织化学 (免疫组化) 染色检测 CD31、C4d、CD3、CD68。根据 Kohei 等^[34] 采用半定量评分标准对肾移植植物毛细血管内 C4d 沉积进行分析: 0 级, 阴性; 1 级, 占全部毛细血管的 <10%; 2 级, 占全部毛细血管的 10%~50%; 3 级, >50% 的毛细血管有 C4d 沉积。

1.3.4 外周血 B 细胞水平检测 在肾移植术后 5 d 获取对照组和 DHA 组大鼠 2 mL 血液, 通过抗凝、裂解红细胞等处理成单细胞悬液, 用抗藻红蛋白-Dazzle-CD19 流式抗体对外周血细胞染色 30 min, 使用流式细胞仪分析。

1.4 统计学方法

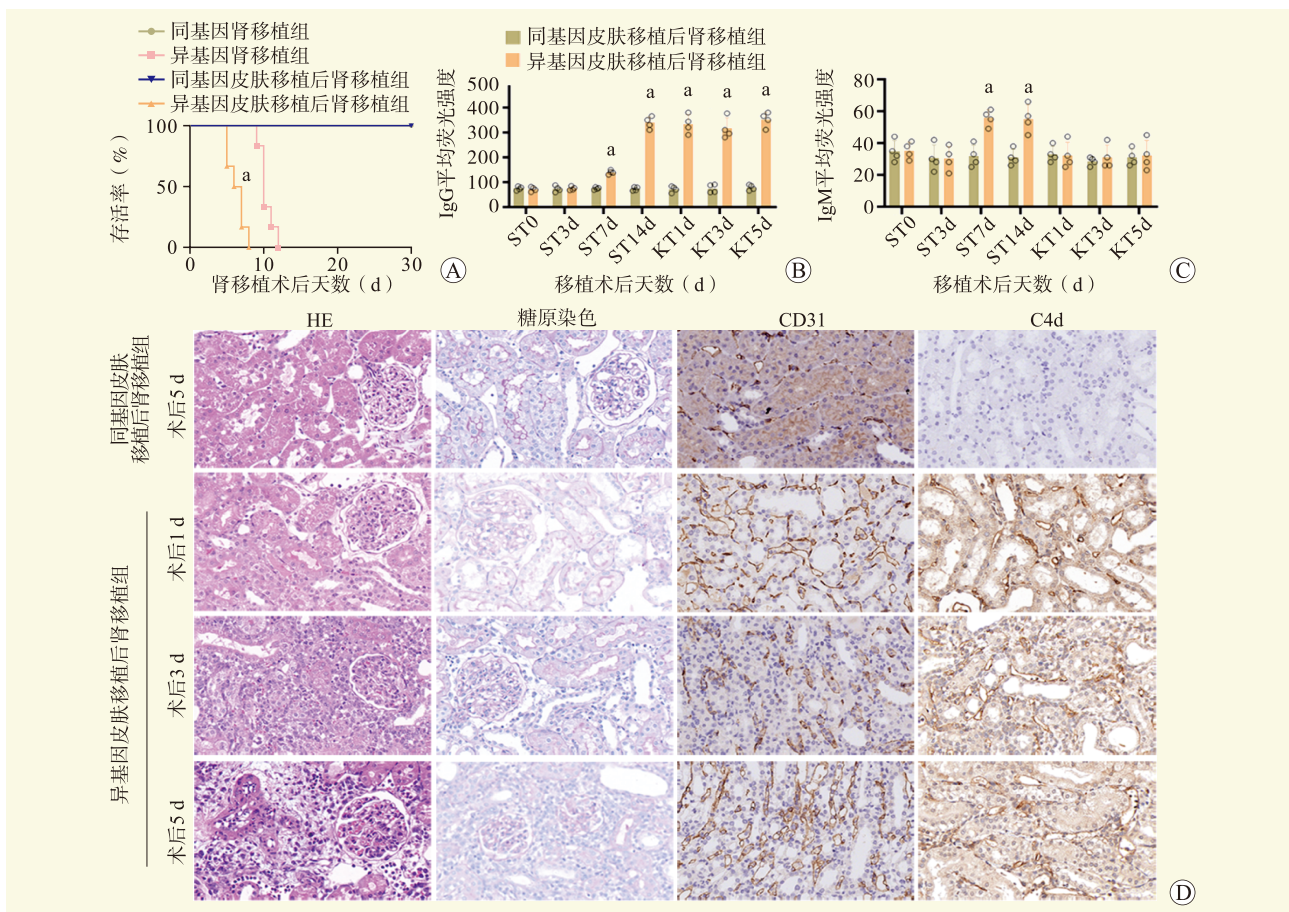
使用 SPSS 22.0 软件进行数据统计和分析, 利用 Image J 软件定量分析免疫组化染色阳性率和统计平均荧光强度, 采用 Kaplan-Meier 法分析存活率。符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠肾移植急性 AMR 模型的建立和分析

同基因肾移植组和同基因皮肤移植后肾移植组在 1 个月观察期内均不发生排斥反应, 受体大鼠长期存活。异基因肾移植组受体大鼠存活时间为 (10.3 \pm 0.9) d, 而在肾移植前 2 周利用异基因大鼠皮肤移植预致敏可缩短受体大鼠存活时间至 (6.3 \pm 1.1) d, 差异有统计学意义 ($P<0.01$, 图 1A)。与同基因皮肤移植后肾移植组比较, 异基因皮肤移植后肾移植组受体大鼠从皮肤移植后 7 d 开始至肾移植术后 5 d 血清 DSA-IgG 水平均显著升高 ($P<0.01$, 图 1B)。异基因皮肤移植后肾移植组受体大鼠在皮肤移植后 7 d 和 14 d 两个时间点时 DSA-IgM 水平均显著高于同基因皮肤移植后肾移植组 ($P<0.01$, 图 1C), 而其他时间点均无升高。

病理学结果分析提示, 同基因皮肤移植后肾移植组肾移植术后 5 d 移植肾无明显肾损伤、肾小管坏死、炎症细胞浸润、毛细血管炎和 C4d 沉积, 而异基因皮肤移植后肾移植组移植肾从术后 1 d 开始即出现少量炎症细胞浸润、肾小管坏死、毛细血管炎和 C4d 沉积, 上述病理表现随着肾移植术后天数增加而加重, 且术后 3 d 开始移植肾损伤明显 (图 1D)。经判断, 本模型病理学表现主要为毛细血管炎、肾小



注：A 图为各组受体大鼠存活率，与异基因肾移植组比较，^a*P*<0.01；B 图为各组受体大鼠相应时间点血清 DSA-IgG 水平，与同基因皮肤移植后肾移植组比较，^a*P*<0.01；C 图为各组受体大鼠相应时间点血清 DSA-IgM 水平，与同基因皮肤移植后肾移植组比较，^a*P*<0.01；D 图为各组受体大鼠相应时间点移植肾 HE、糖原、CD31 和 C4d 染色情况（×400）。ST 为皮肤移植，KT 为肾移植。

图 1 各组受体大鼠存活率、血清 DSA 和组织病理学分析

Figure 1 Analysis of recipient rats survival rate, serum DSA and histopathology in each group

管坏死，受体大鼠血清 DSA 升高和移植肾毛细血管内 C4d 沉积，符合急性 AMR 的诊断标准，是理想的肾移植急性 AMR 模型。

2.2 DHA 减轻急性 AMR, 降低受体大鼠血清 DSA 水平和延长受体大鼠存活时间

在建立急性 AMR 模型的基础上，DHA 治疗显著延长受体大鼠存活时间 [(12.5 ± 1.4) d 比 (6.3 ± 1.1) d, *P*<0.01] (图 2A)。急性 AMR 模型中，皮肤移植术后 7、14 d 和肾移植术后 1、3、5 d 的受体血清 DSA-IgG 水平在 DHA 治疗后均显著下降 (图 2B)；皮肤移植术后 7 d 的受体血清 DSA-IgM 水平在 DHA 治疗后均显著下降 (图 2C)。对照组和 DHA 组移植肾术后 5 d HE 染色结果显示，DHA 治疗后移植肾损伤、炎症细胞浸润和毛细血管炎均减轻。糖原染色结果显示，DHA 治疗后肾小管损伤减轻 (图 2D)。以

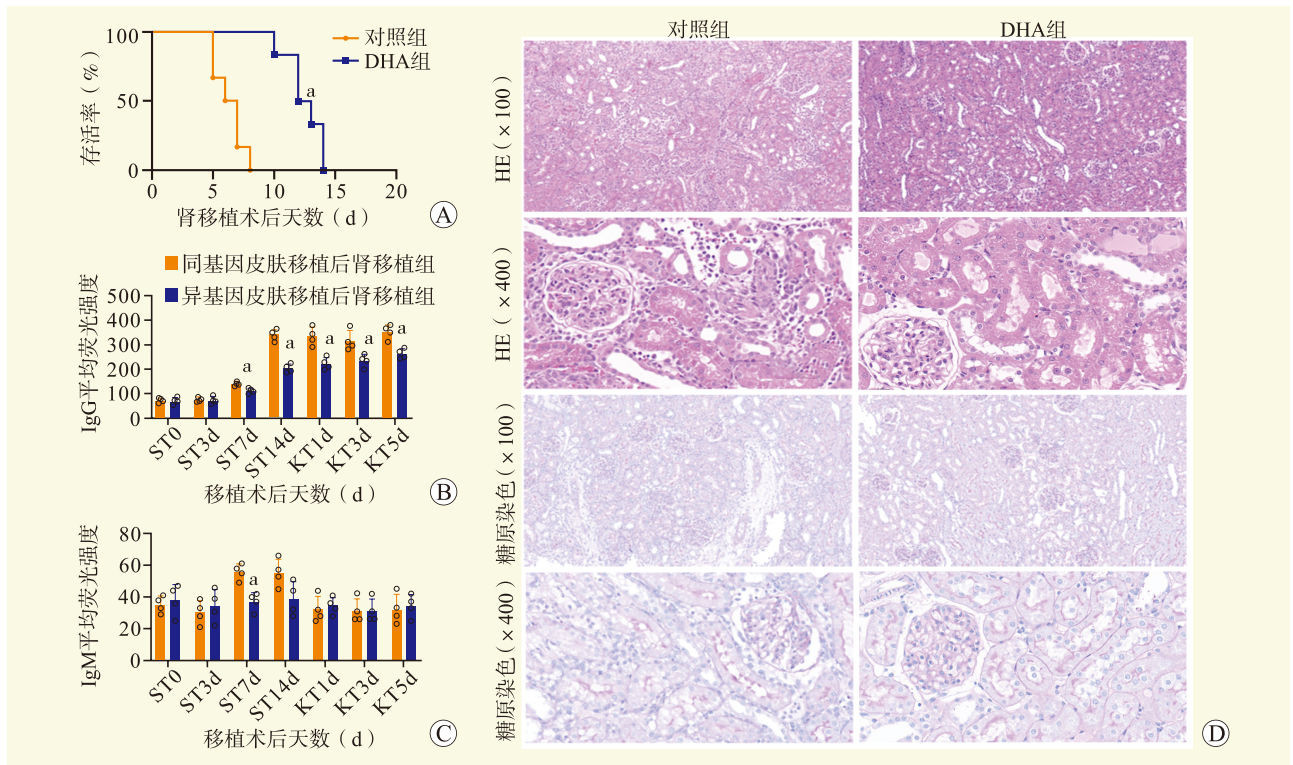
上结果均提示 DHA 可以有效减轻急性 AMR 的病理学表现。

2.3 DHA 减少移植肾内 C4d 沉积、炎症细胞浸润以及降低外周血 B 细胞水平

肾移植术后 5 d 获取对照组和 DHA 组移植肾样本行免疫组化染色。结果显示，DHA 治疗后显著减少移植肾毛细血管内 C4d 沉积，以及 CD3⁺T 细胞和 CD68⁺巨噬细胞的浸润 (图 3A)。进一步通过流式细胞术检测对照组和 DHA 组外周血样本，结果提示 DHA 治疗后显著降低外周血 CD19⁺B 细胞水平 (图 3B)。

3 讨论

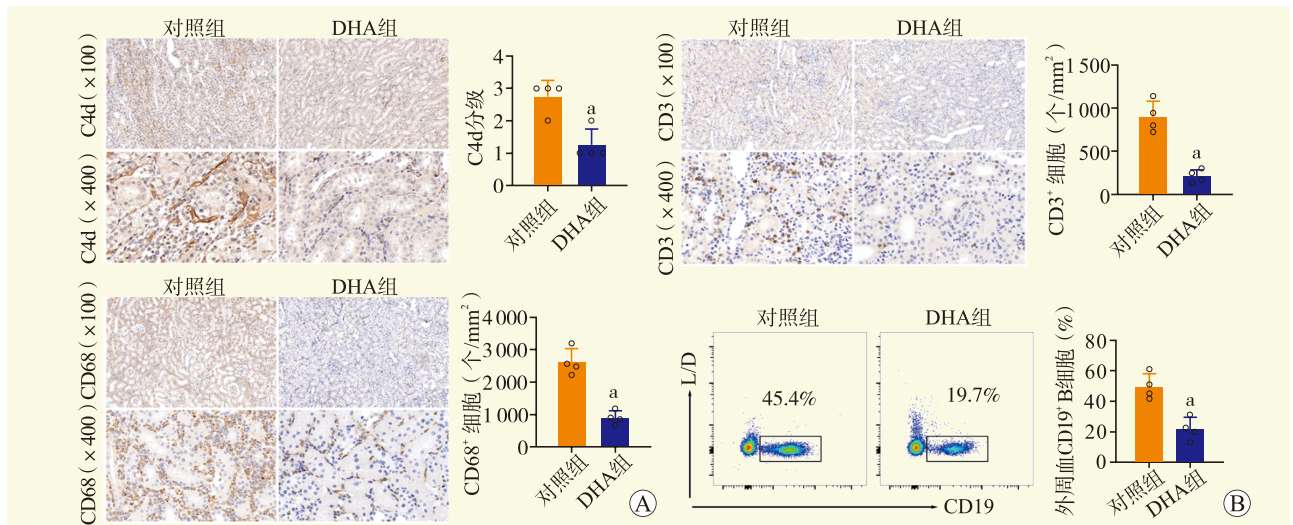
急性 AMR 是临床上的主要难题之一，发病迅速且预后差。一旦诊断急性 AMR，15%~20% 的肾移植受者将在术后 1 年内发生移植肾失功事件；无论能否



注: A 图为对照组和 DHA 组受体大鼠存活率; B 图为对照组和 DHA 组受体大鼠相应时间点血清 DSA-IgG 水平; C 图为对照组和 DHA 组受体大鼠相应时间点血清 DSA-IgM 水平; D 图为对照组和 DHA 组受体大鼠移植肾 HE 和糖原染色情况 (× 100 或 × 400)。与对照组比较, ^aP<0.05。ST 为皮肤移植, KT 为肾移植。

图 2 对照组和 DHA 组受体大鼠存活率、血清 DSA 和组织病理学分析

Figure 2 Analysis of recipient rats survival rate, serum DSA and histopathology in control group and DHA group



注: A 图为对照组和 DHA 组受体大鼠移植肾 C4d、CD3 和 CD68 免疫组化染色 (× 100 或 × 400) 及定量分析; B 图为对照组和 DHA 组受体大鼠外周血 CD19⁺ B 细胞水平。与对照组比较, ^aP<0.01。

图 3 对照组和 DHA 组受体大鼠移植肾内 C4d、炎症细胞及外周血 B 细胞水平检测

Figure 3 Detection of C4d, inflammatory cells in the transplanted kidneys and peripheral blood B-cell levels of recipient rats in control group and DHA group

通过目前的抗排斥反应治疗逆转, 有超过 40% 的急性 AMR 受者将继续进展为慢性 AMR, 而一旦诊断

慢性 AMR, 术后 5 年移植肾存活率往往 < 50%^[35-37]。急性 AMR 主要是由于受者免疫抑制不足, B 细胞活

化后分泌 DSA 联合补体系统和其他多种免疫细胞损伤移植。然而,在急性 AMR 中,还有很多具体的机制尚未阐明,其临床防治效果也差。因此,需要建立小动物肾移植急性 AMR 模型来探索更加有效的防治方法和深入的发生机制。

本课题组既往成功建立了小鼠心脏移植急性和慢性 AMR 模型^[38-39]。本研究利用不同品系大鼠皮肤移植预致敏后行肾移植的方法建立急性 AMR 模型并分析其组织学、血清学和免疫学特点。皮肤移植 1 周后血清 DSA (IgG 和 IgM) 水平升高,其中 DSA-IgG 是导致急性 AMR 的主要抗体类型,其产生较为缓慢但维持时间久; DSA-IgM 主要在排斥反应早期产生,且水平较低、降解快。肾移植术后 1 d 移植肾开始表现出急性 AMR 的特点,包括毛细血管炎、肾小管坏死和 C4d 沉积,这些均符合急性 AMR 的诊断标准。所以,本方法建立的急性 AMR 模型是可行的,能为后续研究提供基础和工具。

青蒿素及其衍生物的免疫抑制作用越来越受到重视,特别是其对 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞的抑制作用,而这些细胞恰好是导致急性 AMR 的关键免疫细胞,所以青蒿素具有很好的防治急性 AMR 的潜能。本团队在建立急性 AMR 模型的基础上,探讨了 DHA 对其防治效果。结果提示,DHA 可以降低血清 DSA 水平,减少移植体内 C4d 沉积和外周血 B 细胞水平,证明 DHA 可以通过抑制 B 细胞活化和抗体的产生,从而抑制补体激活,有效减轻急性 AMR 和延长受体存活。此外,DHA 治疗后也可以显著减少移植体内 T 细胞和巨噬细胞浸润,证明 DHA 也可能通过直接抑制 T 细胞和巨噬细胞活化来发挥免疫抑制作用。因此,DHA 可以通过广泛的免疫抑制作用,抑制 B 细胞、T 细胞和巨噬细胞,从而有效预防急性 AMR。

综上所述,本研究利用大鼠异基因皮肤移植预致敏后进行肾移植的方法,成功建立急性 AMR 模型,并在此基础上证实了 DHA 可以通过免疫抑制作用有效减轻急性 AMR,为临床急性 AMR 的预防提供新思路 and 方向,有望改善移植预后。

参考文献:

- [1] SALIH S, O'CALLAGHAN J, SALIH M, et al. Trends in systematic reviews of kidney transplantation: a 10-year analysis of the evidence base[J]. *Transplant Rev*, 2023, 37(2): 100759. DOI: 10.1016/j.trre.2023.100759.
- [2] VAN LAECKE S, GLORIEUX G. Terminally differentiated effector memory T cells in kidney transplant recipients: new crossroads[J]. *Am J Transplant*, 2025, 25(2): 250-258. DOI: 10.1016/j.ajt.2024.10.001.
- [3] HEEGER P S, HARO M C, JORDAN S. Translating B cell immunology to the treatment of antibody-mediated allograft rejection[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2024, 20(4): 218-232. DOI: 10.1038/s41581-023-00791-0.
- [4] SHAHBAZI F, RANJBARAN M, KARAMI-FAR S, et al. Graft survival rate of renal transplantation during a period of 10 years in Iran[J]. *J Res Med Sci*, 2015, 20(11): 1046-1052. DOI: 10.4103/1735-1995.172814.
- [5] SELLARÉS J, DE FREITAS D G, MENGEL M, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence[J]. *Am J Transplant*, 2012, 12(2): 388-399. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03840.x.
- [6] CHANDRAN S, VINCENTI F. Anti-plasma cell antibodies: a new era of human leukocyte antigen antibody control in solid organ transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2025, 25(1): 19-26. DOI: 10.1016/j.ajt.2024.10.005.
- [7] SAYIN I, CHONG A S. Beyond adaptive alloreactivity: contribution of innate B cells to allograft inflammation and rejection[J]. *Transplantation*, 2023, 107(1): 98-104. DOI: 10.1097/TP.0000000000004377.
- [8] PODESTÀ M A, CHUN N. Role of complement in humoral immunity[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2023, 28(5): 327-332. DOI: 10.1097/MOT.00000000000001095.
- [9] DIEBOLD M, MAYER K A, HIDALGO L, et al. Chronic rejection after kidney transplantation[J]. *Transplantation*, 2025, 109(4): 610-621. DOI: 10.1097/TP.00000000000005187.
- [10] LOKKUR P, BANSAL S B. Complement in kidney transplantation[J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2025, 39(1): 100897. DOI: 10.1016/j.trre.2024.100897.
- [11] DELSANTE M, GANDOLFINI I, PALMISANO A, et al. Early and late antibody mediated rejection: which game is the complement playing?[J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2025, 39(1): 100889. DOI: 10.1016/j.trre.2024.100889.
- [12] SABLİK M, SANNIER A, RAYNAUD M, et al. Microvascular inflammation of kidney allografts and clinical outcomes[J]. *N Engl J Med*, 2025, 392(8): 763-776. DOI: 10.1056/NEJMoa2408835.
- [13] NANKIVELL B J, TAVERNITI A, VISWANATHAN S, et al. The relationship of microvascular inflammation with antibody-mediated rejection in kidney transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2025, 25(1): 115-126. DOI: 10.1016/j.ajt.2024.07.023.
- [14] WELLEKENS K, KOSHY P, ROUFOSSE C, et al. From Banff 1991 to today: the changing landscape of the v-lesion in kidney transplant rejection[J]. *Transpl Int*, 2025, 38: 14818. DOI: 10.3389/ti.2025.14818.
- [15] MAYER K A, BUDDE K, DIEBOLD M, et al. Targeting CD38 in antibody-mediated rejection[J]. *Transpl Int*, 2025, 38: 14343. DOI: 10.3389/ti.2025.14343.
- [16] CALISKAN Y, MIRIOGLU S, DIRIM A B, et al. A comparison of methods of plasmapheresis for the treatment of late antibody mediated rejection in kidney transplant recipients[J]. *Ther Apher Dial*, 2023, 27(3): 428-434. DOI: 10.1111/1744-9987.13937.

- [17] FAVI E, CRESSERI D, PEREGO M, et al. Sequential administration of anti-complement component C5 eculizumab and type-2 anti-CD20 obinutuzumab for the treatment of early antibody-mediated rejection after kidney transplantation: a proof of concept[J]. *Clin Immunol*, 2024, 264: 110240. DOI: 10.1016/j.clim.2024.110240.
- [18] FULCHIERO R, GALEA L, HEWLETT J, et al. Bortezomib for antibody-mediated rejection of kidney transplant in youth: associations with donor-specific antibody[J]. *Pediatr Transplant*, 2024, 28(5): e14774. DOI: 10.1111/ptr.14774.
- [19] WODAJO A, SARODE R, DE SIMONE N, et al. Efficacy of a standardized regimen of therapeutic plasma exchange and IVIG for treatment of antibody-mediated rejection in lung transplant recipients[J]. *J Clin Apher*, 2024, 39(6): e22151. DOI: 10.1002/jca.22151.
- [20] HALVERSON L P, HACHEM R R. Antibody-mediated rejection: diagnosis and treatment[J]. *Clin Chest Med*, 2023, 44(1): 95-103. DOI: 10.1016/j.ccm.2022.10.008.
- [21] KLAYMAN D L. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China[J]. *Science*, 1985, 228(4703): 1049-1055. DOI: 10.1126/science.3887571.
- [22] CHANG Y, LYU T, LUAN X, et al. Artesunate — multiple pharmacological effects beyond treating malaria[J]. *Eur J Med Chem*, 2025, 286: 117292. DOI: 10.1016/j.ejmech.2025.117292.
- [23] 史文花, 陈玉倩, 张永红, 等. 青蒿素通过 HIF-1 α /LDHA 通路抑制糖酵解改善肺血管重塑[J]. *实用医学杂志*, 2025, 41(1): 15-22. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2025.01.003.
- SHI W H, CHEN Y Q, ZHANG Y H, et al. A study of underlying mechanisms of artemisinin inhibiting glycolysis through HIF-1 α /LDHA pathway to improve pulmonary vascular remodeling[J]. *J Pract Med*, 2025, 41(1): 15-22. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2025.01.003.
- [24] XIE K, LI Z, ZHANG Y, et al. Artemisinin and its derivatives as promising therapies for autoimmune diseases[J]. *Heliyon*, 2024, 10(7): e27972. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e27972.
- [25] GAO X, LIN X, WANG Q, et al. Artemisinins: promising drug candidates for the treatment of autoimmune diseases[J]. *Med Res Rev*, 2024, 44(2): 867-891. DOI: 10.1002/med.22001.
- [26] GAO Y, LIU Z Z, ZHANG J B, et al. Dihydroartemisinin is an inhibitor of trained immunity through Akt/mTOR/HIF1 α signaling pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2024, 438(1): 114052. DOI: 10.1016/j.yexcr.2024.114052.
- [27] LONG Z, XIANG W, XIAO W, et al. Advances in the study of artemisinin and its derivatives for the treatment of rheumatic skeletal disorders, autoimmune inflammatory diseases, and autoimmune disorders: a comprehensive review[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1432625. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1432625.
- [28] GU J, XU Y, HUA D, et al. Role of artesunate in autoimmune diseases and signaling pathways[J]. *Immunotherapy*, 2023, 15(14): 1183-1193. DOI: 10.2217/imt-2023-0052.
- [29] YU J, SHENG S, ZOU X, et al. Dihydroartemisinin-ursodeoxycholic acid conjugate is a potential treatment agent for inflammatory bowel disease[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 117: 109918. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.109918.
- [30] LI Q, YUAN Q, JIANG N, et al. Dihydroartemisinin regulates immune cell heterogeneity by triggering a cascade reaction of CDK and MAPK phosphorylation[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 222. DOI: 10.1038/s41392-022-01028-5.
- [31] EFFERTH T, OESCH F. The immunosuppressive activity of artemisinin-type drugs towards inflammatory and autoimmune diseases[J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(6): 3023-3061. DOI: 10.1002/med.21842.
- [32] SHI X, LIAO T, CHEN Y, et al. Dihydroartemisinin inhibits follicular helper T and B cells: implications for systemic lupus erythematosus treatment[J]. *Arch Pharm Res*, 2024, 47(7): 632-644. DOI: 10.1007/s12272-024-01505-1.
- [33] MORAD H O J, LUQMAN S, PINTO L G, et al. Artemisinin inhibits neutrophil and macrophage chemotaxis, cytokine production and NET release[J]. *Sci Rep*, 2022, 12: 11078. DOI: 10.1038/s41598-022-15214-6.
- [34] KOHEI N, TANABE T, HORITA S, et al. Sequential analysis of donor-specific antibodies and pathological findings in acute antibody-mediated rejection in a rat renal transplantation model[J]. *Kidney Int*, 2013, 84(4): 722-732. DOI: 10.1038/ki.2013.117.
- [35] GORBACHEVA V, FAN R, GAUDETTE B, et al. Marginal zone B cells are required for optimal humoral responses to allograft[J]. *Am J Transplant*, 2025, 25(1): 48-59. DOI: 10.1016/j.ajt.2024.09.004.
- [36] DEBYSER T, CALLEMEYN J, COEMANS M, et al. Sensitive HLA antibody testing and the risk of antibody-mediated rejection and graft failure[J]. *HLA*, 2024, 103(6): e15586. DOI: 10.1111/tan.15586.
- [37] EVERITT M D, PAHL E, KOEHL D A, et al. Clinical outcomes after a biopsy diagnosis of antibody-mediated rejection in pediatric heart transplant recipients[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2025, 44(1): 82-91. DOI: 10.1016/j.healun.2024.08.017.
- [38] 廖涛, 杨哲, 张燕楠, 等. 小鼠心脏移植急性抗体介导的排斥反应模型的建立和分析[J]. *器官移植*, 2020, 11(3): 362-368. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2020.03.007.
- LIAO T, YANG Z, ZHANG Y N, et al. Establishment and analysis of mouse model of acute antibody-mediated rejection in heart transplantation[J]. *Organ Transplant*, 2020, 11(3): 362-368. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2020.03.007.
- [39] 张薇, 张庆容, 马茂林, 等. 小鼠心脏移植慢性排斥反应模型的建立和分析[J]. *器官移植*, 2025, 16(1): 99-105. DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2024215.
- ZHANG W, ZHANG Q R, MA M L, et al. Establishment and analysis of chronic rejection model of mouse heart transplantation[J]. *Organ Transplant*, 2025, 16(1): 99-105. DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2024215.

(收稿日期: 2025-06-26)

(本文编辑: 谢诗韵 吴秋玲)