

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2025.19.012

实验研究

艾灸“肺俞”“天枢”穴对支气管哮喘模型大鼠肺组织巨噬细胞 M2 极化的影响

屈艺卓¹, 周竞颖¹, 来奕恬¹, 任玲¹, 谢鑫¹, 邱冉冉², 李南¹, 刘密¹, 张国山[✉]

1. 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南省长沙市岳麓区含浦科教园学士路300号, 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院

[摘要] **目的** 从M2型巨噬细胞极化角度探讨艾灸肺俞、天枢穴减轻支气管哮喘肺纤维化的可能作用机制。**方法** 32只大鼠随机分为正常组、模型组、布地奈德组、艾灸组, 每组各8只。除正常组外, 其余各组大鼠采用卵清白蛋白致敏并激发的方法制备哮喘大鼠模型。从实验第22天开始, 布地奈德组给予吸入用布地奈德混悬液(0.5 mg/ml)雾化治疗, 每次30 min; 艾灸组先后艾灸大鼠双侧“肺俞”“天枢”穴各15 min。模型组、布地奈德组及艾灸组大鼠在每日干预结束1 h后均采用1%卵清白蛋白溶液进行雾化激发, 每次20 min。以上干预均每天1次, 连续14天。正常组大鼠不做任何干预。实验期间观察并记录各组大鼠一般情况, 末次干预结束24 h后取材, 采用ELISA法检测各组大鼠血清中白细胞介素10(IL-10)、趋化因子CC配体16(CCL-16)、趋化因子CC配体18(CCL-18)含量, HE、Masson及PAS染色法观察肺组织病理形态学改变, Western Blot法检测各组大鼠肺组织中甘露糖受体(CD206)、精氨酸酶1(ARG1)、类抵抗素α(FIZZ1)、壳多糖酶3样蛋白3(CHI3L3)、I型胶原蛋白(Col I)、弹性蛋白(Elastin)蛋白相对表达量。**结果** 与正常组比较, 模型组肺组织切片显示大鼠支气管周围炎症浸润严重, 管壁增厚变窄, 胶原纤维沉积严重, 杯状细胞增生明显, 黏液分泌增多; 血清中CCL-16、CCL-18含量及肺组织中CD206、ARG1、CHI3L3、FIZZ1、Col I、Elastin蛋白相对表达量均显著升高, 血清中IL-10含量降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较, 布地奈德组及艾灸组大鼠肺组织结构有所改善, 炎症细胞浸润及胶原沉积程度均显著降低, 杯状细胞增生及黏液分泌减少; 血清中CCL16、CCL18含量及肺组织中CD206、ARG1、CHI3L3、FIZZ1、Col I、Elastin蛋白相对表达量均显著降低, 血清中IL-10含量显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与艾灸组比较, 布地奈德组大鼠肺组织CD206蛋白相对表达量升高, ARG1、CHI3L3、FIZZ1蛋白相对表达量均降低($P<0.01$)。**结论** 艾灸“肺俞”“天枢”穴可能通过调控M2型巨噬细胞极化, 降低肺组织中M2型巨噬细胞分泌的肺纤维化相关蛋白水平, 调节血清中促纤维化相关因子的含量, 进而改善哮喘模型大鼠的肺纤维化程度。

[关键词] 支气管哮喘; 艾灸; 肺俞; 天枢; 巨噬细胞极化; 肺纤维化

支气管哮喘简称“哮喘”, 是一种异质性肺部疾病, 肺纤维化是哮喘后期的显著病理特征, 随着时间和病情进展会导致气道重塑和肺纤维化^[1]。目前, 布地奈德是常用的糖皮质激素, 能有效控制哮喘炎症反应, 降低促纤维化因子表达, 延缓纤维化进程^[2], 但在预防哮喘发作和合并症方面具有一定

局限性, 并且长期或高剂量使用可能影响免疫力或骨骼健康。既往研究显示, 艾灸治疗哮喘具有多靶点、多层次的动态调控作用, 可以有效控制炎症和免疫失衡^[3], 改善肺功能^[4], 预防纤维化的发生发展, 且不良反应极小, 是一种安全、可行且证据充分的辅助干预手段^[5], 可用于优化哮喘长期管理^[6-7]。

巨噬细胞作为肺组织中最丰富的免疫细胞之一, 其极化状态与哮喘的炎症反应密切相关, 其中, M2型巨噬细胞极化在哮喘炎症反应、免疫调节及纤维化过程中起着关键作用^[8]。课题组前期研

基金项目: 国家自然科学基金(82474662); 湖南省自然科学基金(2021JJ30513); 湖南省中医药科研课题(B2023063); 湖南省教育厅科学研究项目(20B444); 湖南中医药大学校级科研课题(2024XJZA008)

✉ 通讯作者: 004321@hnucm.edu.cn

究^[3,9]证实,艾灸可以有效缓解哮喘大鼠的炎症反应和气道重塑。因此,本研究从M2型巨噬细胞极化角度探讨艾灸预防哮喘肺纤维化的可能作用机制。本研究经湖南中医药大学动物实验伦理委员会审批(伦理批准编号:LL2021032407)。

1 材料和方法

1.1 动物

SPF级健康SD大鼠32只,体质量150~170 g,雌雄各半,购自湖南斯莱克景达实验动物公司,实验动物生产许可证号:SYXK(湘)2024-0014。所有动物分笼饲养于在湖南中医药大学的SPF级实验动物中心,室温(22±2)℃,相对湿度45%~70%,自然光照。

1.2 主要试剂及仪器

细艾条(0.7 cm×12 cm,批号:Q/JXFF004-2015,湖香艾生物科技有限公司);氢氧化铝佐剂(货号:77161,Thermo公司);吸入用布地奈德混悬液(批号:LOT 320334,阿斯利康制药有限公司);卵清白蛋白(OVA,货号:A5503)、苏木素(货号:H9627)、伊红(货号:71014544),Sigma公司;戊巴比妥钠(货号:F20020915)、丽春红(货号:71033942)、苯胺蓝染液(货号:71003644),国药化学试剂公司;过碘酸-雪夫染色试剂盒(货号:C0142S,上海碧云天生物技术有限公司);无水乙醇(货号:10009218,国药集团);白细胞介素10(IL-10,货号:MM-0195R1)、趋化因子CC配体16(CCL-16,货号:MM-72667R1)、趋化因子CC配体18(CCL-18,货号:MM-72672R1)ELISA试剂盒,江苏酶免实业有限公司;壳多糖酶3样蛋白3(CHI3L3)抗体(货号:ab93034)、精氨酸酶1(ARG1)抗体(货号:A01106)、类抵抗素α(FIZZ1)抗体(货号:A17227)、I型胶原蛋白(Col I)抗体(货号:14695-1-AP)、弹性蛋白(Elastin)抗体(货号:15257-1-AP)、甘露糖受体(CD206)抗体(货号:18704-1-AP),Abcam公司。

病理切片机(型号:RM2016,上海徕卡仪器有限公司);超声雾化吸入器(型号:YS-06,中国海尔公司);涡旋仪(型号:XW-80A,上海沪西分析仪器公司);光学显微镜(型号:ECLIPSEE200,日本NIKON公司);离心机(型号:5415R,德国Eppendorf公司)。

1.3 分组及造模方法

32只大鼠采用随机数字表法分为正常组、模

型组、布地奈德组及艾灸组,每组8只。称取5 g OVA与50 g氢氧化铝佐剂,加入0.9%氯化钠溶液配置成含有10%OVA的抗原液备用。除正常组外,其余各组大鼠采用OVA致敏并激发的方法制备哮喘大鼠模型^[10]:实验第1、8天,大鼠背部及腹股沟皮下分别注射抗原液0.2 ml,腹腔注射0.8 ml抗原液;实验第15~21天,大鼠均放置在一个特制的透明雾化箱中,每天接受1次1% OVA氯化钠溶液的雾化激发处理,每次持续20 min,连续7天。在建立模型的过程中,大鼠表现出毛发竖立、呼吸急促、焦虑不安、频繁抓挠面部和鼻部以及口唇发紫等症状,表明哮喘模型构建成功^[10]。

1.4 干预方法

从实验第22天开始,艾灸组大鼠先后艾灸双侧“肺俞”“天枢”穴各15 min,共计30 min,穴位定位参照《实验动物常用穴位名称与定位第2部分:大鼠》^[11],艾灸干预时细艾条悬置于艾灸架的灸网上,距离皮肤3~5 cm,并将实验室排烟机置于细艾条上方吸走烟雾。布地奈德组给予吸入用布地奈德混悬液(0.5 mg/ml)进行超声雾化治疗,每天1次,每次30 min。模型组、布地奈德组及艾灸组大鼠在每日干预结束1 h后均采用1%卵清白蛋白进行雾化激发,每次20 min。以上干预均每天1次,连续14天。正常组大鼠不做任何干预。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 行为学观察 实验期间观察并记录各组大鼠的反应敏捷性、活动情况、精神状态、排泄情况等变化。

1.5.2 ELISA法检测血清中IL-10、CCL-16、CCL-18含量 末次干预结束24 h后进行取材,每组采用随机数字表法选取6只大鼠以2%戊巴比妥钠(0.2 ml/100 g)腹腔注射麻醉,麻醉后充分暴露腹主动脉取血5 ml,静置后4℃、3500 r/min(离心半径13.5 cm)离心10 min,取上清液,严格按照ELISA试剂盒说明书操作,检测IL-10、CCL-16、CCL-18含量。

1.5.3 大鼠肺组织病理形态 大鼠取血后,打开胸腔,采用随机数字表法剪取6只大鼠右肺前叶组织50 mg, PBS洗涤后,固定24 h、石蜡包埋、制作切片及烤片,切片脱蜡后用于后续染色。1) HE染色:入苏木素染液、伊红染液染色,染色后均浸洗返蓝;2) Masson染色:入苏木素染液及丽春红染液并流水冲洗,苯胺蓝染液复染;3) PAS染色:入过碘酸-雪夫染色试剂染色,苏木素复染。染色

后均以无水乙醇脱水，二甲苯透明，风干后中性树胶封片，最后光学显微镜下拍照观察肺组织病理学改变。

1.5.4 Western Blot 法检测肺组织 CD206、ARG1、CHI3L3、FIZZ1、Col I、Elastin 蛋白相对表达量

采用随机数字表法剪取 6 只大鼠右肺中叶组织 50 mg，裂解后在 4℃、12 000 r/min（离心半径 13.5 cm）离心 5 min，摇匀并取上清进行蛋白定量。依次制胶上样、电泳、转膜、封闭、稀释相应的一抗（稀释比例均为 1:500），4℃孵育过夜后洗膜，稀释相应的二抗（稀释比例 1:5000），室温摇床孵育 2 h 后洗膜。TBST 缓冲液洗涤 3 次后，通过增强的化学发光试剂盒显影。检测纤维化相关蛋白（Col I、Elastin）、巨噬细胞标志物（CD206）、M2 型巨噬细胞分泌纤维化相关蛋白（ARG1、CHI3L3、FIZZ1）水平，使用 Image J 1.8.0 软件分析。以目标蛋白条带灰度值/内参（Actin）灰度值表示结果。

1.6 统计学方法

使用 SPSS 26.0 统计软件对数据进行统计学分析。计量资料均呈正态分布用均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间比较方差齐者采用 LSD 法，方差不齐则采用 Dunnett's T° 法。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

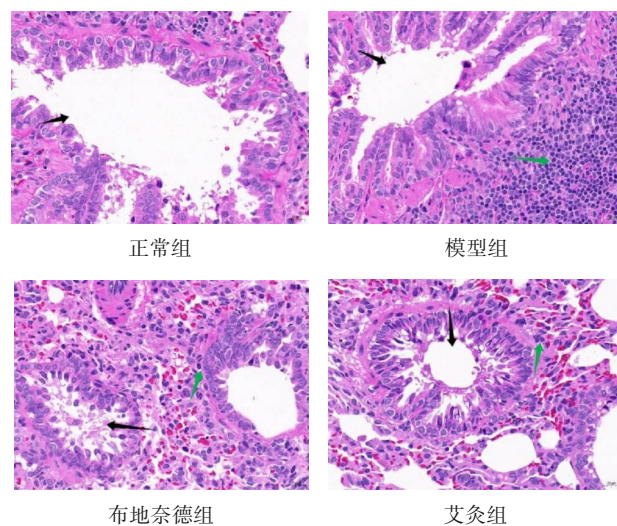
2.1 各组大鼠一般情况比较

正常组大鼠未显示出任何异常，体态健康，精神状态好，反应敏捷，呼吸平稳、节奏规律且均匀，无咳嗽或气喘，二便情况正常。模型组大鼠精神萎靡、反应变慢，在雾化激发时逐渐显示出呼吸急促、咳嗽、频繁抓鼻和点头等哮喘症状，且这些症状逐渐恶化，二便基本正常。与模型组比较，布地奈德组和艾灸组大鼠上述症状有显著改善，精神状态较好，二便基本保持正常，而两组大鼠一般情况无显著差异。

2.2 各组大鼠肺组织病理形态学比较

HE 染色（图 1）结果显示，正常组大鼠的肺组织结构清晰、完整，细胞排列有序，肺泡壁紧密且规则；而模型组大鼠肺组织结构出现严重紊乱，气道管腔变窄，气道和肺泡均观察到明显嗜酸性粒细胞浸润，且细胞排列无序，肺泡壁显著增厚。与模型组比较，布地奈德组和艾灸组大鼠肺组织结构有所改善，炎性细胞浸润显著减少，细胞排列更加

有序，而两组肺组织形态及炎性细胞浸润情况无显著差异。

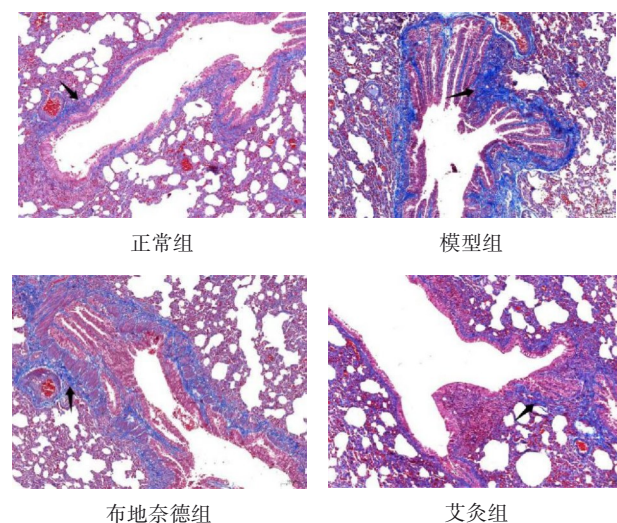


注：黑色箭头指示支气管，绿色箭头指示炎性细胞。

图 1 各组大鼠肺组织 HE 染色病理形态学比较（×400）

Figure 1 Comparative histopathological morphology of lung tissue in rats of each group by HE staining (×400)

Masson 染色（图 2）结果显示，正常组大鼠肺组织气道及支气管周围可见少量胶原纤维沉积；而模型组大鼠肺组织可见大量胶原纤维沉积。与模型组比较，布地奈德组和艾灸组大鼠肺组织中胶原纤维沉积有所减少，两组大鼠肺组织胶原纤维沉积程度无显著差异。



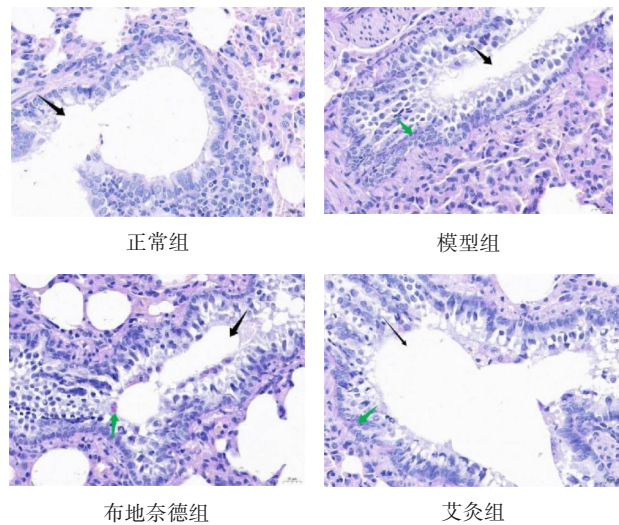
注：黑色箭头指示胶原纤维沉积。

图 2 各组大鼠肺组织 Masson 染色病理形态学比较（×100）

Figure 2 Comparative histopathological morphology of lung tissue in rats of each group by Masson's trichrome staining (×100)

PAS 染色（图 3）结果显示，正常组大鼠肺组织结构清晰，无明显杯状细胞增生及黏液分泌增加

情况,纤毛排列整齐。模型组大鼠气道壁可见大量紫红色染色情况,说明杯状细胞增生明显,黏液分泌增多,上皮纤毛倒伏、部分脱落,排列不整齐。与模型组比较,布地奈德组与艾灸组大鼠气道壁紫红色染色明显减少,说明杯状细胞增生及黏液分泌情况均减轻。布地奈德组和艾灸组大鼠肺组织杯状细胞增生及黏液分泌情况无显著差异。



注:黑色箭头指示气道部位,绿色箭头指示杯状细胞增生及黏液分泌。

图3 各组大鼠肺组织PAS染色病理形态学比较(×400)
Figure 3 Comparison of histopathological morphology in lung tissue from rats in each group by PASS staining (×400)

表1 各组大鼠血清中IL-10、CCL-16、CCL-18含量比较

Table 1 Comparison of IL-10, CCL-16, CCL-18 levels in serums of rats among each group (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IL-10	CCL-16	CCL-18
正常组	6	142.922±3.052	246.932±4.184	133.346±2.272
模型组	6	103.885±3.982 ^{a)}	325.495±9.855 ^{a)}	177.989±2.239 ^{a)}
布地奈德组	6	135.242±3.692 ^{b)}	280.852±8.474 ^{b)}	150.557±5.760 ^{b)}
艾灸组	6	132.742±0.947 ^{b)}	287.488±12.270 ^{b)}	153.584±3.913 ^{b)}

注:IL-10,白细胞介素10;CCL-16,趋化因子CC配体16;CCL-18,趋化因子CC配体18。

a)与正常组比较, $P<0.01$;b)与模型组比较, $P<0.01$ 。

表2 各组大鼠肺组织中Col I、Elastin、CD206、ARG1、CHI3L3、FIZZ1蛋白相对表达量比较

Table 2 Comparison of relative expression levels of Col I, Elastin, CD206, ARG1, CHI3L3, and FIZZ1 proteins in lung tissues of rats among each group (/β-Actin, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Col I	Elastin	CD206	ARG1	CHI3L3	FIZZ1
正常组	6	0.308±0.010	0.143±0.004	0.158±0.012	0.315±0.018	0.125±0.019	0.232±0.022
模型组	6	0.829±0.084 ^{a)}	0.715±0.053 ^{a)}	0.571±0.041 ^{a)}	0.788±0.041 ^{a)}	0.760±0.033 ^{a)}	0.813±0.038 ^{a)}
布地奈德组	6	0.636±0.070 ^{b)}	0.577±0.047 ^{b)}	0.356±0.016 ^{b)}	0.518±0.076 ^{b)}	0.314±0.034 ^{b)}	0.287±0.012 ^{b)}
艾灸组	6	0.590±0.082 ^{b)}	0.609±0.024 ^{c)}	0.284±0.034 ^{b) d)}	0.715±0.022 ^{c) d)}	0.598±0.041 ^{b) d)}	0.543±0.043 ^{b) d)}

注:Col I, I型胶原蛋白;Elastin,弹性蛋白;CD206,甘露糖受体;ARG1,精氨酸酶1;CHI3L3,壳多糖酶3样蛋白3;FIZZ1,类抵抗素α。

a)与正常组比较, $P<0.01$;b)与模型组比较, $P<0.01$;c)与模型组比较, $P<0.05$;d)与布地奈德组比较, $P<0.01$ 。

2.3 各组大鼠血清中IL-10、CCL-16、CCL-18含量比较

表1示,与正常组比较,模型组大鼠血清中CCL-16、CCL-18含量均显著升高,IL-10含量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,布地奈德组和艾灸组大鼠血清中CCL-16、CCL-18含量均显著降低,IL-10含量显著升高($P<0.01$)。布地奈德组和艾灸组血清中IL-10、CCL-16、CCL-18含量比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 各组大鼠肺组织中Col I、Elastin、CD206、ARG1、CHI3L3、FIZZ1蛋白相对表达量比较

表2示,与正常组比较,模型组大鼠肺组织中Col I、Elastin、CD206、ARG1、CHI3L3、FIZZ1蛋白相对表达量均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,布地奈德组和艾灸组大鼠肺组织中Col I、Elastin、CD206、ARG1、CHI3L3、FIZZ1蛋白相对表达量均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与布地奈德组比较,艾灸组大鼠肺组织中Col I、Elastin蛋白相对表达量比较差异无统计学意义($P>0.05$),CD206蛋白相对表达量降低,ARG1、CHI3L3、FIZZ1蛋白相对表达量均升高($P<0.01$)。

3 讨论

哮喘后期出现的纤维化是疾病迁延日久、反复发作后出现的严重病理状态。中医理论认为,哮喘后期肺气壅塞、宣降失常,若大肠传导受阻会加重

肺气上逆, 并阻碍肺络中痰瘀的排出; 肺肠功能失调共同导致痰浊内生, 加剧痰瘀互结。本研究中“肺俞”“天枢”联用是在“肺与大肠相表里”指导下形成的中医治疗方法, 肺俞是肺之精气输注于背部的特定腧穴, 内应于肺脏, 艾灸此穴具有温补肺气、缓解肺肾气虚的作用; 天枢是大肠的募穴, 是肠腑之气结聚于腹部的特定腧穴, 艾灸可健脾化湿, 通畅气机, 泄肠道浊毒。既往临床研究^[12]表明, 针刺肺经与大肠经的穴位可达到肺脾肾同调、痰瘀分消的协同效果。

哮喘的显著特征是持续的呼吸系统炎症、气道高反应性和气道重塑^[13]。气道重塑是哮喘的病理基础, 也是哮喘难以根治的根本原因, 其主要病理学改变包括广泛的上皮损伤、黏膜下层杯状细胞化生、气道平滑肌增生和肥大、纤维化增加^[14]。气道上皮通过释放促炎因子、杯状细胞化生及黏液过度分泌参与气流受限的形成^[15]; 通过上皮间质转化引起细胞外基质 (ECM) 沉积, 进而造成的平滑肌增生以及上皮下纤维化参与气道重塑^[16]。本研究肺组织病理形态学结果提示, 哮喘模型大鼠的肺组织结构严重紊乱, 炎性细胞浸润, 杯状细胞增生明显, 黏液分泌增多, 气道管腔变窄, 而艾灸“肺俞”“天枢”穴及布地奈德干预后上述情况均得到显著改善, 提示艾灸和布地奈德治疗可以有效缓解哮喘大鼠的炎症反应和气道重塑, 这与课题组前期研究^[3, 9]结果一致。

炎症和纤维化并存是哮喘发展后期的重要病理特征。纤维化的显著特征是气道 ECM 蛋白的表达和沉积^[17], 其中 Col I 是主要的 ECM 蛋白之一, 具有纤维形成和组织修复的作用^[18]。Elastin 是一种结构型 ECM 蛋白, 对肺的组织结构至关重要, 与气道的扩张性直接相关^[19], 哮喘中气道弹性回缩的丧失并向纤维化进展过程与 Elastin 的合成密切相关^[20]。布地奈德能够控制炎症, 有效延缓哮喘肺纤维化的进程^[6], 是临床常用的一线用药, 因此本研究选取该药作为阳性对照。本研究结果显示, 模型组大鼠 Col I、Elastin 蛋白水平较正常组显著升高, 提示哮喘大鼠的肺组织结构严重破坏, 气道重塑加剧, 向纤维化进展; 而艾灸和布地奈德雾化干预后大鼠肺组织两种蛋白水平均显著降低, 且两组间比较差异无统计学意义, 提示两种干预方法均能有效减轻哮喘大鼠的肺纤维化程度。

巨噬细胞是异质吞噬细胞, 在先天免疫中起着重要作用, 是过敏性哮喘期间肺部最丰富的免疫细

胞, 在哮喘组织修复的不同阶段发生动态变化。在哮喘早期炎症反应损伤组织时, 巨噬细胞表现为经典激活巨噬细胞 (M1 型), 主要激活辅助性 T 细胞 1 (Th1) 免疫反应参与炎症反应, 产生大量的促炎因子和趋化因子, 从而介导炎症反应和组织损伤^[21]; 在哮喘发展的中后期, 由辅助性 T 细胞 2 (Th2) 型细胞因子诱导激活替代活化巨噬细胞 (M2 型) 极化, 分泌高水平的 ECM 和多种促纤维化介质, 具有促进组织损伤和修复以及促纤维化的作用^[22]。CD206 是一种受体, 表达在活化的 M2 型巨噬细胞表面, 是其特异性标志物^[23]。本研究结果表明, 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织 CD206 蛋白水平显著升高, 表明哮喘大鼠激活 M2 型巨噬细胞极化, 共同参与抗炎及促纤维化; 而艾灸和布地奈德雾化干预后大鼠肺组织 CD206 蛋白水平显著降低, 证实艾灸及布地奈德雾化干预可以调节 M2 型巨噬细胞极化。与布地奈德组比较, 艾灸组大鼠肺组织 CD206 蛋白水平显著降低, 提示艾灸能更好地调节 M2 型巨噬细胞极化, 从而维持肺部稳态。

M2 型巨噬细胞在哮喘的免疫调节和促纤维化过程中发挥关键作用, 参与组织修复和重塑^[24]。根据微环境的不同, M2 巨噬细胞又可分为 M2a、M2b、M2c 和 M2d 四种亚型^[25]。由于本研究主要关注巨噬细胞极化对哮喘纤维化的影响, 故选择与巨噬细胞极化相关的 M2a 和 M2c 进行研究。M2a 巨噬细胞是由白细胞介素 4 和白细胞介素 13 刺激产生的, 高水平表达 CD206、FIZZ1、ARG1、CHI3L3、CCL18, 分泌胰岛素样生长因子、纤维连接蛋白等组织修复所需的促纤维化因子^[26-27]。M2c 巨噬细胞在抑制免疫应答和促进组织修复中发挥关键作用, 其表面表达高水平的 CD206, 并高分泌 IL-10、CCL-16 和 CCL-18^[28-29]。M2a 亚型会表达 3 种独特的致病因子, 包括刺激支气管收缩和气道重塑的高分泌 ARG1, 诱导纤维化的 FIZZ1, 以及诱导纤维化和嗜酸性粒细胞炎症的 CHI3L3^[30]。因此, M2 型巨噬细胞极化能够促进组织重塑和 ECM 产生, 最终形成纤维化阶段。本研究结果显示, 与正常组比较, 模型组大鼠 ARG1、CHI3L3、FIZZ1 蛋白水平均显著升高, 表明哮喘大鼠的肺组织 M2 型巨噬细胞过度极化表现 M2a 亚型, 并表达大量的促纤维化蛋白和其他介质, 促进纤维化的发生发展。

IL-10 由支气管上皮细胞和巨噬细胞分泌, 具有抑制炎症反应的作用, 并有研究结果已证实

IL-10 在慢性炎症中可通过调节 M2c 巨噬细胞从而驱动纤维化^[31]。本研究结果中, 模型组大鼠血清 IL-10 相较于正常组显著降低, 这提示哮喘处于晚期纤维化伴随免疫衰竭状态, 艾灸与布地奈德雾化干预后 IL-10 显著升高, 提示艾灸及布地奈德可以介导抗炎和纤维化。CCL-16 是一种以趋化特性著称的趋化因子, 具有与多种趋化因子受体结合的能力, 在 CCL-16 存在的情况下, IL-10 会加剧 CCL-16 表达导致的炎症, 促进巨噬细胞 M2 极化并表达 M2c 亚型, 介导抗炎及组织修复^[32]。CCL-18 又称肺活化调节趋化因子, 可由单核细胞和巨噬细胞分泌, 受 Th2 细胞因子如 IL-10 的调节, 在 Th2 相关炎症性疾病中高表达, 如哮喘、类风湿性关节炎和肺纤维化^[33]。本研究结果可见, 与正常组比较, 模型组大鼠血清 CCL-16、CCL-18 含量均显著升高, 提示哮喘大鼠巨噬细胞 M2 极化表达 M2c 亚型并加速肺组织修复和纤维化, 艾灸与布地奈德雾化干预后肺组织 ARG1、CHI3L3、FIZZ1 表达及血清 CCL-16、CCL-18 含量均显著降低, 证实艾灸及布地奈德雾化干预均能通过调节巨噬细胞 M2 极化, 改善肺组织纤维化。与艾灸组比较, 布地奈德组大鼠肺组织 ARG1、CHI3L3、FIZZ1 蛋白水平显著降低, 提示布地奈德雾化干预能更有效地抑制纤维化进展。

综上所述, 艾灸“肺俞”“天枢”穴可能通过调控 M2 型巨噬细胞极化, 降低哮喘大鼠肺组织中 M2 型巨噬细胞分泌的肺纤维化相关蛋白水平, 调节血清中促纤维化相关因子的含量, 进而改善哮喘大鼠的肺纤维化程度。然而, 本研究仅在模型大鼠上进行了观察, 相关临床研究仍需后期进一步探讨和证实。

参考文献

- [1] SAVIN IA, MARKOV AV, ZENKOVA MA, et al. Asthma and post-asthmatic fibrosis: a search for new promising molecular markers of transition from acute inflammation to pulmonary fibrosis[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(5): 1017.
- [2] BEASLEY R, HARRISON T, PETERSON S, et al. Evaluation of budesonide-formoterol for maintenance and reliever therapy among patients with poorly controlled asthma: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Netw Open*, 2022, 5(3): e220615.
- [3] 任玲, 周竞颖, 来奕恬, 等. “肺俞”“天枢”艾灸对支气管哮喘模型大鼠气道重塑、免疫细胞分化及肠道短链脂肪酸的影响[J]. *中医杂志*, 2024, 65(21): 2240–2249.
- [4] 周竞颖, 来奕恬, 任玲, 等. 针刺与艾灸对哮喘大鼠肺功能及气道炎症的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2023, 43(4): 469–475.
- [5] 张雪, 程觅, 史阳琳, 等. 针灸对哮喘相关免疫细胞调节作用的研究进展[J]. *上海针灸杂志*, 2020, 39(11): 1465–1472.
- [6] MCCORMACK PL, LYSENG-WILLIAMSON KA. Budesonide/formoterol: a review of its use as maintenance and reliever inhalation therapy in asthma[J]. *Drugs*, 2007, 67(16): 2407–2431.
- [7] 赵蜜蜜, 宁百乐, 黄熙畅, 等. 符文彬教授整合思维“一针二灸三巩固”模式治疗支气管哮喘的临床经验[J]. *中国中医急症*, 2022, 31(11): 2034–2037.
- [8] HOU F, XIAO K, TANG L, et al. Diversity of macrophages in lung homeostasis and diseases[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 753940. doi: 10.3389/fimmu.2021.753940.
- [9] 来奕恬, 周竞颖, 任玲, 等. 艾灸“肺肠同治”对哮喘模型大鼠炎症反应及肠道短链脂肪酸的影响[J]. *针刺研究*, 2023, 48(9): 881–889.
- [10] 何婷, 钱佩瑶, 洪敏, 等. 诱发支气管哮喘动物模型气道重塑特征的方法和评价[J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(1): 117–123.
- [11] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位第 2 部分: 大鼠[J]. *针刺研究*, 2021, 46(4): 351–352.
- [12] 陈俊康. 基于“肺与大肠相表里”理论比较穴位贴敷不同选穴对哮喘缓解期患者的临床疗效[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2024.
- [13] SALAMEH L, MAHMOOD W, HAMOUDI R, et al. The role of vitamin D supplementation on airway remodeling in asthma: a systematic review[J]. *Nutrients*, 2023, 15(11): 2477.
- [14] SAVIN IA, ZENKOVA MA, SENKOVA AV. Bronchial asthma, airway remodeling and lung fibrosis as successive steps of one process[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16042.
- [15] 魏盼, 李恋曲, 吴鹏, 等. 上皮间质转化与哮喘气道重塑的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(5): 600–603.
- [16] JOHNSON JR, ROOS A, BERG T, et al. Chronic respiratory aeroallergen exposure in mice induces epithelial-mesenchymal transition in the large airways[J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e16175.
- [17] JIN Y, YI C. Corilagin attenuates airway inflammation and collagen deposition in ovalbumin-induced asthmatic mice[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2023, 51(6): 97–103.
- [18] KOOHESTANI F, BRAUNDMEIER AG, MAHDIAN A,

- et al. Extracellular matrix collagen alters cell proliferation and cell cycle progression of human uterine leiomyoma smooth muscle cells[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e75844.
- [19] REDDEL CJ, WEISS AS, BURGESS JK. Elastin in asthma[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2012, 25(2): 144–153.
- [20] PHAM DN, CHU HW, MARTIN RJ, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 with elastolysis in nocturnal asthma[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2003, 90(1): 72–78.
- [21] 赵艳梅, 韩悦, 柯云玲, 等. 巨噬细胞极化在肺部疾病中的作用机制[J]. 中国防痨杂志, 2024, 46(S2): 22–24.
- [22] PAJARINEN J, LIN T, GIBON E, et al. Mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk and bone healing [J]. Biomaterials, 2019, 196: 80–89. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.12.025.
- [23] 芮艳. 桉油醇通过下调 M2 巨噬细胞极化抑制肺纤维化的作用机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2024.
- [24] DENG L, JIAN Z, XU T, et al. Macrophage polarization: an important candidate regulator for lung diseases [J]. Molecules, 2023, 28(5): 2379.
- [25] MANTOVANI A, SICA A, SOZZANI S, et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization [J]. Trends Immunol, 2004, 25(12): 677–686.
- [26] DU Y, RONG L, CONG Y, et al. Macrophage polarization: an effective approach to targeted therapy of inflammatory bowel disease [J]. Expert Opin Ther Targets, 2021, 25(3): 191–209.
- [27] CHENG H, WANG Z, FU L, et al. Macrophage polarization in the development and progression of ovarian cancers: an overview [J]. Front Oncol, 2019, 9: 421. doi: 10.3389/fonc.2019.00421.
- [28] WANG Y, WANG K, BAO Y, et al. The serum soluble Klotho alleviates cardiac aging and regulates M2a/M2c macrophage polarization via inhibiting TLR4/Myd88/NF- κ B pathway [J]. Tissue Cell, 2022, 76: 101812. doi: 10.1016/j.tice.2022.101812.
- [29] TIAN L, YU Q, LIU D, et al. Epithelial-mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells is enhanced by M2c macrophage polarization [J]. Immunol Invest, 2022, 51(2): 301–315.
- [30] GIRODET PO, NGUYEN D, MANCINI JD, et al. Alternative macrophage activation is increased in asthma [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2016, 55(4): 467–475.
- [31] MURRAY PJ, ALLEN JE, BISWAS SK, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines [J]. Immunity, 2014, 41(1): 14–20.
- [32] SCHUTYSER E, RICHMOND A, VAN DAMME J. Involvement of CC chemokine ligand 18 (CCL18) in normal and pathological processes [J]. J Leukoc Biol, 2005, 78(1): 14–26.
- [33] PIVARCSI A, GOMBERT M, DIEU-NOSJEAN MC, et al. CC chemokine ligand 18, an atopic dermatitis-associated and dendritic cell-derived chemokine, is regulated by staphylococcal products and allergen exposure [J]. J Immunol, 2004, 173(9): 5810–5817.

Effects of Moxibustion at "Feishu (BL 13)" and "Tianshux (ST 25)" Bronchial Asthma Model Rats Acupoints on M2 Polarization of Macrophages in Lung Tissue in Bronchial Asthma Model Rats

QU Yizhuo¹, ZHOU Jingying¹, LAI Yitian¹, REN Ling¹, XIE Xin¹, QIU Ranran², LI Nan¹, LIU Mi¹, ZHANG Guoshan¹

1. College of Acupuncture-Moxibustion-Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, 410208; 2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To explore the potential mechanism of moxibustion at Feishu (BL 13) and Tianshu (ST 25) acupoints to alleviate pulmonary fibrosis in bronchial asthma from the perspective of M2 macrophage polarization.

Methods Thirty-two rats were randomly divided into four groups, control group, model group, budesonide group, and moxibustion group, with 8 rats in each group. Except for the control group, asthma models were established by sensitizing rats with ovalbumin followed by challenge. Starting from day 22 of the experiment, the budesonide group received inhaled budesonide suspension (0.5 mg/ml) nebulization therapy for 30 minutes per session; the moxibustion group received bilateral moxibustion at "Feishu (BL 13)" and "Tianshu (ST 25)" acupoints for 15 minutes each. Rats in the model, budesonide, and moxibustion groups received 20-minute nebulized challenges with 1% ovalbumin solution 1 hour after daily intervention. All interventions were administered once daily for 14 consecutive days. Rats in the control group received no intervention. During the experiment, the general condition of rats in each group

was observed and recorded. Tissue samples were collected 24 hours after the final intervention. ELISA method was used to detect the levels of interleukin-10 (IL-10), chemokine CC ligand 16 (CCL-16), and chemokine CC ligand 18 (CCL-18) levels in the serum of rats from each group; histopathological changes in lung tissue were examined using hematoxylin and eosin (HE), Masson's trichrome, and periodic acid-Schiff (PAS) staining. Western Blot analysis was performed to detect the relative expression levels of mannose receptor (CD206), arginase 1 (ARG1), fetuin-1 (FIZZ1), chitinase-like protein 3 (CHI3L3), type I collagen (Col I), and Elastin in lung tissues of rats. **Results**

Compared with the control group, the model group showed severe inflammatory infiltration around the bronchi, thickened and narrowed bronchial walls, severe deposition of collagen fibers, obvious goblet cell hyperplasia, and increased mucus secretion in lung tissue sections; the levels of CCL-16 and CCL-18 in the serum and the relative expression levels of CD206, ARG1, CHI3L3, FIZZ1, Col I, and Elastin in lung tissue significantly increased, while the level of IL-10 in the serum significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, the budesonide and moxibustion groups showed improved lung tissue architecture in rats, with significantly reduced inflammatory cell infiltration and collagen deposition, decreased goblet cell hyperplasia, and diminished mucus secretion; serum levels of CCL16 and CCL18, along with relative expression levels of CD206, ARG1, CHI3L3, FIZZ1, Col I, and elastin significantly reduced, while serum IL-10 levels significantly elevated ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the moxibustion group, the relative expression of CD206 protein in lung tissue increased in the budesonide group, while the relative expression of ARG1, CHI3L3, and FIZZ1 proteins decreased ($P < 0.01$).

Conclusion Moxibustion at "Feishu (BL 13)" and "Tianshu (ST 25)" acupoints may improve pulmonary fibrosis in asthma model rats by regulating M2 macrophage polarization, reducing the expression levels of lung fibrosis-related proteins secreted by M2 macrophages in lung tissue, and modulating the content of pro-fibrotic related factors in serum.

Keywords bronchial asthma; moxibustion; Feishu (BL 13); Tianshu (ST 25); macrophage polarization; pulmonary fibrosis

(收稿日期: 2025-05-22; 修回日期: 2025-07-31)

[编辑: 邓媛]

广告

欢迎订阅 2026 年《中医杂志》

《中医杂志》(ISSN 1001-1668, CN 11-2166/R)是由中华中医药学会和中国中医科学院主办的中医药综合性学术期刊。创刊以来始终坚持“以提高为主, 兼顾普及”的办刊方针, 是我国中医药界创刊早、发行量大、具有较高权威性和学术影响力的国家级中医药期刊之一, 是中文核心期刊和科技核心期刊、中国精品科技期刊、首届国家期刊奖获得者和中国期刊方阵双奖期刊、新中国 60 年有影响力的期刊、中国百强科技期刊、中国百种杰出学术期刊, 中医药科技期刊分级目录 T1 级期刊。荣获第五届中国出版政府奖期刊奖, 第二届、第三届、第四届中国出版政府奖期刊奖提名奖。

《中医杂志》主要栏目中当代名医和临证心得分别介绍名老中医和临床医生辨证用药治疗疑难病的经验; 临床研究介绍中医药治疗的新方法、新成果; 学术探讨、思路与方法、循证中医药、病例讨论、综述、百家园等栏目, 提供最新学术观点、研究成果与治疗方法, 成为学习中医药、研究中医药, 不断提高临床及研究水平的良师益友。

《中医杂志》为半月刊, 每月 2 日和 17 日出版, 每期定价 40.00 元, 全年 960 元。国内读者可以到全国各地邮局办理订阅手续(邮发代号: 2-698), 也可与本刊读者服务部联系邮购, 邮购免邮费。电话: (010) 64035632, (010) 64089195。国外发行: 中国国际图书贸易集团有限公司(北京 399 信箱, 邮编: 100044, 代号: SM140)。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。

网址: <http://www.jtcm.net.cn>。

