

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2024.16.012

天灸“肺俞”穴对健康大鼠 Th17/Treg 免疫平衡及炎症反应的影响

林佳¹, 邵晓梅², 傅瑞阳¹, 李金霞¹, 郭小青[✉]

1. 浙江中医药大学附属湖州中医院, 浙江省湖州市吴兴区南街315号, 313000; 2. 浙江省针灸神经病学研究重点实验室

[摘要] **目的** 探讨天灸“肺俞”穴对健康大鼠辅助性T细胞17(Th17)/调节性T细胞(Treg)免疫平衡的影响。**方法** 将48只大鼠随机分为假天灸组10只, 天灸组38只。假天灸组大鼠将空白的穴位贴敷于双侧“肺俞”穴, 天灸组大鼠将填有复方斑蝥膏的穴位贴敷于双侧“肺俞”穴, 贴敷时间为8 h。8 h后天灸组大鼠成功发泡30只, 再随机分为天灸1天组、天灸3天组、天灸7天组, 每组10只。实验期间记录大鼠一般情况; 天灸不同时间组在相应时间取材, 采用HE染色观察大鼠贴敷区域皮肤的病理改变; 采用流式细胞术检测外周血Th17、Treg细胞表达, 计算Th17/Treg值; 采用ELISA法检测血清白细胞介素17A(IL-17A)、白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素10(IL-10)含量。**结果** 与假天灸组比较, 天灸1天组大鼠贴敷区域可见水泡, 大鼠经常搔抓天灸区域皮肤, 皮肤出现角质层松散, 棘层、颗粒层增厚, 基底层细胞缺失, 炎性细胞浸润, 外周血Treg及血清IL-17A、IL-6水平升高($P<0.01$); 天灸3天组天灸区域结痂并可见部分脱落, 皮肤病理改变最明显, 外周血Th17、Treg表达及血清IL-17A、IL-6、IL-10水平升高($P<0.01$); 天灸7天组天灸区域皮肤损伤及病理改变基本恢复。天灸1、3、7天组Th17/Treg值均较假天灸组降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与天灸1天组比较, 天灸3天组外周血Th17、Treg表达及血清IL-17A升高; 天灸7天组外周血Treg表达及血清IL-17A、IL-6降低, Th17/Treg值升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与天灸3天组比较, 天灸7天组外周血Th17、Treg表达及血清IL-17A、IL-6、IL-10降低, Th17/Treg值升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 天灸“肺俞”穴能使健康大鼠Th17/Treg平衡向Treg偏移, 使其逐渐趋向免疫平衡, 并调节血清中相关的炎症因子防止炎症的发生发展。

[关键词] 天灸; 肺俞; 辅助性T细胞17; 调节性T细胞; 免疫平衡; 炎症反应

天灸(vesicated moxibustion, VM)又称“自灸”, 现代称为“药物发泡灸”或“冷灸”^[1], 是指采用对皮肤具有刺激性的药物涂抹或贴敷在穴位、病处, 使局部皮肤充血、起泡, 有如火燎之状, 以达到防治疾病目的的一种灸疗法^[2]。课题组前期临床研究^[3]发现, 与未发泡比较, 天灸治疗在防治呼吸系统疾病发生、发展方面疗效更佳。现代研究显示, 天灸通过刺激皮肤引起发泡, 可激发多种免疫细胞^[4]、细胞因子^[5]和炎症介质^[6]共同参与级联反应, 提高机体抗病能力。天灸发泡产生应急

反应, 激活树突状细胞从而促进T细胞活化, 发挥天灸的免疫调节作用^[7]。其中辅助性T细胞17(Th17)和调节性T细胞(Treg)是T细胞的两个亚型, Th17细胞介导的促炎反应和Treg细胞介导的抗炎反应之间的平衡关系在炎症维持和疾病进展中发挥着重要作用^[8]。本研究拟从Th17/Treg免疫平衡角度, 探讨天灸可能的作用机制, 以期为天灸的临床应用提供实验依据。本研究经浙江中医药大学实验动物管理与伦理委员会批准(伦理批准编号: IACUC-20220411-16)。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠48只, 7~8周龄, 体质量

基金项目: 湖州市科学技术局公益性应用研究-医卫一般项目(2021GY18)

✉ 通讯作者: 16937549@qq.com

(200±20) g, 由上海 BK 有限公司提供, 实验动物生产许可证号: SCXK(沪) 2018-0006。实验于浙江省针灸神经病学研究重点实验室进行, 温度 23~25 ℃, 湿度 60%~70%, 自由摄食, 正常喂水, 12 h 昼夜节律。适应性喂养 1 周后进行实验。

1.2 实验药物

复方斑蝥膏组成: 斑蝥(浙江天道有限公司, 批号: 19101801)、丁香(浙江佐力白草医药有限公司, 批号: 20220301)、肉桂(浙江佐力百草医药有限公司, 批号: 20220601)三者打粉, 以重量 2:1:1 比例混合均匀, 以甘油调和, 由浙江中医药大学附属湖州中医院配制。

1.3 主要试剂与仪器

FITC 抗大鼠/小鼠 CD4 (货号: 11-0040-82)、PE 抗大鼠/小鼠 CD25 (货号: 12-0390-82)、APC 抗大鼠/小鼠叉头框蛋白 P3 (Foxp3, 货号: 17-5773-82)、PE 花菁染料 7 抗大鼠/小鼠白细胞介素 17A (IL-17A, 货号: 25-7177-82), 杭州宝科生物科技有限公司; 红细胞裂解液 (货号: BL503B)、转录因子缓冲剂 (货号: 562574)、淋巴细胞分离液 (货号: 17544602-1)、无菌缓冲液 (货号: abs962), 上海优宁维生物科技股份有限公司; 中性树胶 (货号: CS9603), 杭州正伯生物科技有限公司; 苏木精染料 (货号: 7211)、伊红染料 (货号: 7111)、返蓝试剂 (货号: 7301), 赛默飞世尔科技有限公司; 戊巴比妥钠 (货号: P3761), 杭州达诚生物技术有限公司; IL-17A (货号: JHN85259)、白细胞介素 6 (IL-6, 货号: JHN85298)、白细胞介素 10 (IL-10, 货号: JHN85252) ELISA 检测试剂盒, 杭州金恒诺生物科技有限公司。

5 cm×5 cm 内径 1 cm 的 PU 防水空白穴位贴 (货号: 20230520), 山东万仁医疗器械有限公司; 全自动脱水机 (型号: Excelsior AS)、全自动包埋机 (型号: HistoStar)、染色机 (型号: Gemini AS)、酶标分析仪 (型号: DENLEY DRAGON Wellscan MK 3)、冷冻离心机 (型号: Heraeus Multifuge X3FR), 美国赛默飞公司; 光学显微镜 (型号: Motic AE 2000), 厦门麦克奥迪医疗诊断系统有限公司; 数字病理切片扫描系统 (型号: C13210-01), 滨松光子学商贸有限公司; 流式细胞仪 (型号: CytoFlex S), 贝克曼库尔特有限公司。

1.4 分组及干预方法

48 只大鼠按照随机数表法分为假天灸组 10 只, 天灸组 38 只。天灸穴位贴准备^[9]: 复方斑蝥膏填

充于 PU 防水空白穴位贴直径为 1 cm 的内圈内, 轻轻按压, 以复方斑蝥膏填满并且不高突于穴位贴内圈为度。

各组大鼠均选取双侧“肺俞”穴进行干预, 参照《实验针灸学》^[10], “肺俞”定位于第 3 胸椎下两旁肋间, 背正中线旁开 6 mm。以大鼠双侧“肺俞”穴为中心的 3 cm×3 cm 区域脱毛, 生理盐水清洁, 室温 25 ℃。假天灸组大鼠将空白的穴位贴贴敷于双侧“肺俞”穴, 其余各组大鼠将填有复方斑蝥膏的穴位贴贴敷于双侧“肺俞”穴, 外用胶布固定, 贴敷时间为 8 h。取下穴位贴后可见小水泡即为天灸成功。天灸组敷贴 8 h 后成功发泡 30 只, 再采用随机数表法分为天灸 1 天组、天灸 3 天组、天灸 7 天组, 每组 10 只。

1.5 观察指标及方法

天灸 1 天组、天灸 3 天组、天灸 7 天组大鼠分别于天灸后 1 天、3 天、7 天称重取材, 假天灸组取材时间同天灸 7 天组。大鼠予 3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 腹腔麻醉后, 打开腹腔取腹主动脉血, 用随机数字表法每组选择 5 只大鼠收集 4 ml 血液于肝素钠抗凝管中, 加入适量红细胞裂解液后用于流式细胞术检测外周血 Th17/Treg 亚群比例; 每组剩余 5 只大鼠收集 4 ml 血液于干净试管中室温凝固 2 h 后, 4 ℃、1500 g 离心 15 min, 收集上清液, 在 -80 ℃冰箱中保存用于 ELISA 检测。

1.5.1 一般情况 观察并记录各组大鼠发泡前后皮毛、精神状态、进食、饮水量及粪尿情况。

1.5.2 HE 染色观察天灸区域皮肤病理情况 采用随机数字表法各组选取 5 只大鼠发泡区域 3 cm×3 cm 全层皮肤组织于 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h, 固定后的组织进行常规脱水、透明、浸蜡、包埋, 切片 4 μm。烤片后二甲苯脱蜡、水化后进行 HE 染色, 最后用中性树胶封片。于光学显微镜下观察天灸区域染色情况并用数字病理切片扫描系统拍片。

1.5.3 流式细胞术检测外周血 Th17/Treg 亚群 大鼠外周血中加入等量无菌 PBS 缓冲液, 吹打混匀。加入等量细胞分层液, 将稀释后的血液沿离心管壁缓慢加入, 4 ℃、400 g 离心 20 min。转移单个核细胞层 (PBMC) 至新的离心管中, 加入 3 倍体积的无菌 PBS 吹打悬浮细胞, 4 ℃、400 g 离心 5 min, 去上清。加入适量红细胞裂解液, 4 ℃、400 g 离心 5 min。经预冷的 PBS 洗涤后重悬, 计数后将其细胞密度调至 1×10⁶ 个/ml。FITC 抗大鼠/小鼠 CD4 和 PE 花菁染料 7 抗大鼠/小鼠 IL-17A 用于 Th17 细胞染

色。FITC 抗大鼠/小鼠 CD4、PE 抗大鼠/小鼠 CD25 和 APC 抗大鼠/小鼠 Foxp3 用于 Treg 细胞染色。采用流式细胞仪检测 Th17 与 Treg 亚群，得到 Th17/Treg 值。

1.5.4 ELISA 法检测血清 IL-17A、IL-6、IL-10 含量 血液室温静置凝固 2 h，常温、1500 g 离心 15 min，收集血清。依照 ELISA 试剂盒说明书操作，记录酶标仪在 450 nm 波长条件下测得的吸光度值，绘制标准曲线，计算血清中 IL-17A、IL-6、IL-10 含量。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析，计量资料均符合正态分布及方差齐性以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况

假天灸组大鼠精神状态佳，进食、饮水及粪尿正常。与假天灸组相比，天灸 1 天组贴敷区域可见水泡，大鼠经常搔抓贴敷区域皮肤，舔舐毛发，部分大鼠出现毛发杂乱，精神状态尚可，进食、饮水及粪尿减少；天灸 3 天组大鼠贴敷区域结痂并可见部分脱落，毛发杂乱，精神状态尚可，进食、饮水及粪尿减少。天灸 7 天组大鼠贴敷区域皮肤恢复，表面光滑无红肿及痂块，毛发生长，精神状态佳，进食、饮水及粪尿正常。

2.2 各组大鼠贴敷区域皮肤病理改变比较

图 1 示，假天灸组大鼠皮肤组织结构完整，表皮角质层、透明层、颗粒层、棘层、基底层排列清晰，真皮与皮下组织正常。天灸 1 天组大鼠皮肤角质层松散，棘层、颗粒层增厚，基底层细胞缺

失，炎性细胞浸润。天灸 3 天组大鼠皮肤角质层脱落，棘层、颗粒层增厚，基底层细胞缺失，炎性细胞浸润最明显，且局部与表皮层分离。天灸 7 天组大鼠表皮的角质层、透明层、颗粒层、棘层、基底层排列较前整齐，细胞间距减小，无明显炎性细胞浸润，与假天灸组相比未见明显差异。

2.3 各组大鼠外周血 Th17、Treg 细胞表达比较

表 1 示，与假天灸组比较，天灸 1 天组大鼠外周血 Treg 表达升高，天灸 3 天组 Th17、Treg 表达升高，天灸 1、3、7 天组 Th17/Treg 值均降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与天灸 1 天组比较，天灸 3 天组 Th17、Treg 表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；天灸 7 天组 Treg 表达降低，Th17/Treg 值升高 ($P < 0.05$)。与天灸 3 天组比较，天灸 7 天组 Th17、Treg 表达降低，Th17/Treg 值升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

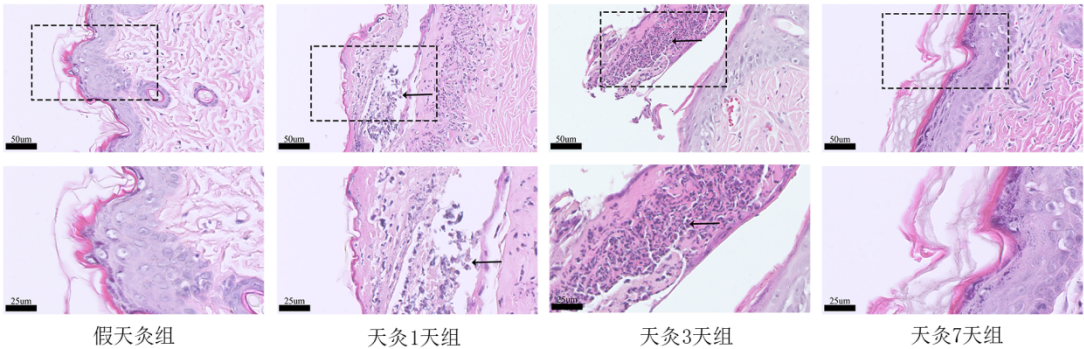
表 1 各组大鼠外周血 Th17、Treg 细胞表达及 Th17/Treg 值比较

Table 1 Comparison of Th17 and Treg expression in peripheral blood and Th17/Treg value among groups ($\bar{x} \pm s$)				
组别	鼠数	Th17/%	Treg/%	Th17/Treg
假天灸组	5	1.36±0.02	5.35±0.37	0.26±0.02
天灸 1 天组	5	1.50±0.01	12.02±1.75 ^{a)}	0.14±0.02 ^{a)}
天灸 3 天组	5	1.89±0.10 ^{a) c)}	18.51±1.10 ^{a) d)}	0.10±0.01 ^{a)}
天灸 7 天组	5	1.45±0.01 ^{e)}	7.40±0.30 ^{d) e)}	0.20±0.01 ^{b) d) f)}

注：Th17，辅助性 T 细胞 17；Treg，调节性 T 细胞。
a) 与假天灸组比较， $P < 0.01$ ；b) 与假天灸组比较， $P < 0.05$ ；
c) 与天灸 1 天组比较， $P < 0.01$ ；d) 与天灸 1 天组比较， $P < 0.05$ ；
e) 与天灸 3 天组比较， $P < 0.01$ ；f) 与天灸 3 天组比较， $P < 0.05$ 。

2.4 各组大鼠血清炎症指标水平比较

表 2 示，与假天灸组比较，天灸 1 天组血清 IL-17A、IL-6 水平升高，天灸 3 天组血清 IL-17A、



注：黑色箭头所指为炎性细胞浸润。其中下方图 (×800) 为相应上方图 (×400) 虚线框内的放大图。

图 1 各组大鼠天灸区域皮肤组织病理学表现 (HE 染色)

Figure 1 Histopathological manifestations of the skin in the region of natural moxibustion of rats in each group (HE staining)

IL-6、IL-10 水平升高 ($P<0.01$)。与天灸 1 天组比较, 天灸 3 天组血清 IL-17A 水平升高 ($P<0.05$); 天灸 7 天组血清 IL-17A、IL-6 水平降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与天灸 3 天组比较, 天灸 7 天组血清 IL-17A、IL-6、IL-10 明显降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 2 各组大鼠血清 IL-17A、IL-6、IL-10 水平比较

Table 2 Comparison of serum IL-17A、IL-6、IL-10 levels of rats in each group (pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	IL-17A	IL-6	IL-10
假天灸组	5	60.85±2.26	183.04±17.21	158.86±11.72
天灸 1 天组	5	74.86±4.60 ^{a)}	322.84±39.66 ^{a)}	191.33±11.16
天灸 3 天组	5	86.76±2.17 ^{a) b)}	328.36±35.86 ^{a)}	210.66±16.05 ^{a)}
天灸 7 天组	5	59.95±1.55 ^{c) d)}	236.00±8.07 ^{b) e)}	168.53±8.62 ^{a)}

注: IL-17A, 白细胞介素 17A; IL-6, 白细胞介素 6; IL-10, 白细胞介素 10。

a) 与假天灸组比较, $P<0.01$; b) 与天灸 1 天组比较, $P<0.05$; c) 与天灸 1 天组比较, $P<0.01$; d) 与天灸 3 天组比较, $P<0.01$; e) 与天灸 3 天组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

目前关于天灸的临床报道, 国内多以白芥子为主药制成药饼敷贴发泡^[11], 国外多为斑蝥素发泡^[12]。有研究^[13]应用三伏灸贴发泡疗法防治支气管哮喘, 强调一定要使皮肤起泡, 且发泡越大, 疗效越明显。本研究使用的复方斑蝥膏是以斑蝥为主, 斑蝥攻毒蚀疮、破癥散结, 外敷可刺激皮肤表皮引起发泡, 是发泡的常用药物, 相较于其他发泡药物, 斑蝥具有发泡较浅、恢复快且疼痛感较弱、不易留疤的特点^[9]。研究^[14]发现, 复方斑蝥胶囊可以调节原发性肝癌患者外周血中 Th17/Treg 平衡, 增强免疫功能。《素问·生气通天论篇》指出: “阳者卫外而为固也。”扶助阳气可抵御外邪, 故佐以丁香温胃散寒、温肾助阳, 肉桂补火助阳、散寒止痛, 共奏扶正补虚、疏通经络之效。本研究结果显示, 天灸对大鼠局部皮肤产生刺激, 大鼠皮肤出现水泡, 角质层松散, 棘层、颗粒层增厚, 基底层细胞缺失, 炎性细胞浸润, 天灸 3 天组最明显。天灸发泡后 7 天皮肤基本恢复, 肉眼及显微镜下病理切片观察均与假天灸组大鼠无明显差别, 说明斑蝥虽然对局部皮肤的发泡刺激强, 但对组织作用相对缓和, 不易留疤, 符合人们对天灸发泡能有效而不留疤的期待, 是较为适宜的天灸药物。

《温热论》提出: “肺主气属卫”, 肺合皮毛,

布散卫气于外。本研究天灸穴位选择在双侧肺俞穴, 肺俞穴是足太阳膀胱经腧穴, 在肺俞艾灸能激发卫气起到固护作用^[15]; 同时肺俞穴是肺之背俞穴, 通彻肺气, 主治肺脏疾患, 能改善肺脏功能, 缓解肺脏功能失常所致症状。研究^[16]显示, 艾灸支气管哮喘模型小鼠“肺俞”“中府”穴可以改善小鼠肺功能, 降低 Th17/Treg 值, 提示肺俞穴不仅能治疗肺部疾病, 亦能增强机体卫外功能, 提高机体免疫力。Th17 和 Treg 两个亚群之间建立的平衡对于防止过度免疫激活、自身免疫反应和代谢综合征发病机制至关重要^[17]。Th17 细胞与 Treg 细胞来源于一个共同的前体细胞, 是适应性免疫的关键组成部分, 细胞分化时相互制衡, 发挥功能时相互拮抗, 一定条件下还可相互转化^[18]。Th17 亚群不仅有助于宿主防御细胞外病原体, 也与自身免疫介导的炎症性疾病的发病机制有关^[19]。Treg 是参与维持免疫稳态和预防自身免疫的重要细胞亚群^[20], Treg 有助于建立对新生儿皮肤和结肠中共生微生物的免疫耐受性^[21]。本研究结果显示, 与假天灸组比较, 天灸 1 天组、天灸 3 天组、天灸 7 天组大鼠外周血 Th17/Treg 明显降低, 提示天灸发泡使 Th17/Treg 平衡向 Treg 偏移, 阻止炎症反应进一步发展, 使其逐渐趋向免疫平衡, 维持免疫稳态。

IL-17A 是 Th17 细胞产生的特征细胞因子, 参与机体防御反应和炎性反应的进展^[22]。IL-10 是 Treg 细胞分泌的特征性细胞因子^[23], Treg 细胞通过释放 IL-10 抑制抗原提呈细胞中主要组织相容性复合体分子和共刺激分子的表达, 并减少促炎因子白细胞介素 23 (IL-23) 的分泌, 阻止 Th17 的分化, 发挥抑炎作用^[24]。IL-6 在决定 T 细胞分化途径的方向中起重要作用, 缺失 IL-6 会驱动幼稚 T 细胞分化为 Treg 细胞, 而 IL-6 的存在会促进分化为 Th17 细胞, IL-6 的失调可能导致 Th17/Treg 失衡^[24]。本研究结果显示, 天灸 1 天组、天灸 3 天组因天灸发泡对机体局部产生急性炎性刺激, IL-17A、IL-6 明显升高, 提示天灸发泡通过诱导无菌性炎症反应来提高机体抗病能力。天灸 3 天组 IL-10 明显升高, 提示天灸发泡在诱导机体炎症反应的同时也会诱导机体产生更多的 Treg 细胞释放 IL-10 抑炎因子, 使 Th17/Treg 平衡向 Treg 偏移来阻止炎症的发生发展, 防止机体过度炎性反应造成组织损伤。与假天灸组比较, 天灸 7 天组 IL-17A、IL-6、IL-10 差异无统计学意义, 说明机体的炎性刺激已逐渐恢复。

综上, 天灸增强机体免疫力机制可能与调节血清中相关的细胞因子水平, 使 Th17/Treg 平衡向 Treg 偏移有关, 从而防止炎症的发生发展, 使其逐渐趋向免疫平衡。天灸通过增强免疫功能、减轻炎症反应以实现扶正祛邪的目的。然而本实验泡体的大小和数量难以人为控制, 天灸引起的刺激量亦相对难以控制, 需在以后的实验中继续优化天灸发泡模型的方法与操作。

参考文献

- [1] 谭支绍. 中医天灸疗法[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1991: 1.
- [2] 赖新生, 王黎. 发泡疗法[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001: 1.
- [3] 郭小青, 傅瑞阳, 朱仡, 等. 复方斑蝥膏穴位敷贴治疗支气管哮喘临床观察[J]. 中国中医急症, 2013, 22(11): 1954-1955.
- [4] 廖冰洁, 汪杨, 李月梅, 等. 三伏天灸调节支气管哮喘患者 Th1/Th2 比值的初步研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(3): 264-266.
- [5] 刘志丹, 林玉芳, 陈春兰, 等. 穴位敷贴治疗与烫伤所致水疱内液体蛋白质组学差异研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(7): 139-143.
- [6] XIANG SJ, LI MH, CHAN CO, et al. Altered metabolites in guinea pigs with allergic asthma after acupoint sticking therapy: new insights from a metabolomics approach[J]. *Phytomedicine*, 2019, 54: 182-194. doi: 10.1016/j.phymed.2018.09.021.
- [7] 邹晓军, 刘惠萍, 程涛, 等. 流式细胞术检测斑蝥酊剂发泡液中的成分研究[J]. 中药材, 2007, 30(7): 823-825.
- [8] THOMAS R, QIAO S, YANG X. Th17/Treg Imbalance: implications in lung inflammatory diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5): 4865.
- [9] 宋晓平, 姬晓兰. 斑蝥、白芥子发泡规律的研究[J]. 中国针灸, 2007, 27(2): 126-128.
- [10] 余曙光, 郭义. 实验针灸学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 150.
- [11] 杨克俭, 杨杏, 李柠岑, 等. 天灸疗法在呼吸系统疾病中的应用概况及选方用穴规律研究[J]. 山东中医杂志, 2023, 42(8): 891-897.
- [12] DAWSON J, VOGELSANGER M. Cantharidin-induced skin blister as an in vivo model of inflammation[J]. *Curr Protoc*, 2021, 1(2): e49.
- [13] 徐涵斌, 何勇, 宋南昌. 三伏灸贴防治支气管哮喘发泡大小与临床疗效的相关性研究[J]. 中医外治杂志, 2015, 24(6): 23-25.
- [14] 杨海, 程维刚, 杨佳宝, 等. 复方斑蝥胶囊辅助介入化疗对原发性肝癌患者增效减毒及 Th17/Treg 平衡的影响[J]. 中医研究, 2023, 36(7): 24-28.
- [15] 赵宁, 鲍蔚敏. 艾灸大椎肺俞治疗风咳浅析[J]. 光明中医, 2024, 39(10): 2063-2066.
- [16] 乔赞, 雷惠婷, 易蔚, 等. 肺“俞募配穴”艾炷灸对哮喘小鼠 Th17/Treg 平衡的影响[J]. 中国针灸, 2020, 40(11): 1217-1222.
- [17] ZHANG S, GANG X, YANG S, et al. The alterations in and the role of the Th17/Treg balance in metabolic diseases[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 678355. doi: 10.3389/fimmu.2021.678355.
- [18] KARGAR M, TORABIZADEH M, PURRAHMAN D, et al. Regulatory factors involved in Th17/Treg cell balance of immune thrombocytopenia[J]. *Curr Res Transl Med*, 2023, 71(2): 103389.
- [19] WU B, WAN Y. Molecular control of pathogenic Th17 cells in autoimmune diseases[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80: 106187. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106187.
- [20] WANG J, ZHAO X, WAN YY. Intricacies of TGF- β signaling in Treg and Th17 cell biology[J]. *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(9): 1002-1022.
- [21] SCHARSCHMIDT TC, VASQUEZ KS, TRUONG HA, et al. A wave of regulatory T cells into neonatal skin mediates tolerance to commensal microbes[J]. *Immunity*, 2015, 43(5): 1011-1021.
- [22] CUI H, WANG N, LI H, et al. The dynamic shifts of IL-10-producing Th17 and IL-17-producing Treg in health and disease: a crosstalk between ancient "Yin-Yang" theory and modern immunology[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 99.
- [23] MAJUMDER S, MCGEACHY MJ. IL-17 in the pathogenesis of disease: good intentions gone awry[J]. *Annu Rev Immunol*, 2021, 39: 537-556. doi: 10.1146/annurev-immunol-101819-092536.
- [24] HU P, WANG M, GAO H, et al. The role of helper T cells in psoriasis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 788940. doi: 10.3389/fimmu.2021.788940.

Effects of Natural Moxibustion at "Feishu (BL 13)" on Th17/Treg Immune Balance and Inflammatory Response in Healthy Rats

LIN Jia¹, SHAO Xiaomei², FU Ruiyang¹, LI Jinxia¹, GUO Xiaoqing¹

1. Huzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Huzhou, 313000; 2. Key Laboratory of Acupuncture and Neurology Research of Zhejiang Province

ABSTRACT Objective To observe the effect of natural moxibustion at "Feishu (BL 13)" on immune balance of T helper cell 17 (Th17) / regulatory T cell (Treg) in healthy rats. **Methods** Forty-eight rats were randomly divided into 10 rats in the sham moxibustion group and 38 rats in natural moxibustion group. The rats in the sham moxibustion group applied blank acupoint stickers to bilateral "Feishu (BL 13)", and the rats in natural moxibustion group applied acupoint stickers filled with *Compound Banmao Ointment* (复方斑蝥膏) to bilateral "Feishu (BL 13)" for a period of 8 h. Thirty rats in natural moxibustion group were successfully blistered after 8 h, and then were randomly divided into 1-day, 3-day and 7-day groups with 10 rats in each group. The general condition of rats was recorded during the experiment; different time groups of natural moxibustion were sampled at the corresponding time, and HE staining was used to observe the pathological changes of the skin in the area of application; flow cytometry was used to detect the subpopulations of Th17 and Treg in peripheral blood, and the value of Th17/Treg was calculated; and ELISA was used to detect the serum interleukin 17A (IL-17A) and interleukin 6 (IL-6), interleukin 10 (IL-10) levels.

Results Compared with sham moxibustion group, blisters can be seen in the application area of rats in 1-day natural moxibustion group, and the rats often scratched the skin of the moxibustion area, which showed loose stratum corneum, thickening of the stratum spinosum and stratum granulosum, absence of cells in the basal layer, inflammatory cell infiltration, and elevation of Treg in peripheral blood, and serum IL-17A, IL-6; in 3-day natural moxibustion group, the moxibustion area of the rats was scabbed and partially detached, with the most obvious dermatopathological changes, and elevated peripheral blood Th17 and Treg, and serum IL-17A, IL-6, IL-10; in 7-day natural moxibustion group, skin damage and pathological changes in the area of moxibustion were basically restored; Th17/Treg values were reduced in 1-, 3- and 7-day moxibustion groups after blistering ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the 1-day moxibustion group, peripheral blood Th17, Treg, and serum IL-17A elevated in the 3-day moxibustion group; peripheral blood Treg, serum IL-17A, and IL-6 decreased, and Th17/Treg values elevated in the 7-day moxibustion group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the 3-day moxibustion group, the 7-day moxibustion group had lower peripheral blood Th17 and Treg, serum IL-17A, IL-6, and IL-10, and higher Th17/Treg values ($P < 0.05$ or $P < 0.01$).

Conclusion Natural moxibustion at "Feishu (BL 13)" can shift the Th17/Treg balance towards Treg of healthy rats, which will gradually lead to immune homeostasis, and regulate the relevant inflammatory factors in the serum to prevent inflammation from occurring and developing.

Keywords natural moxibustion; Feishu (BL 13); T helper cell 17; regulatory T cell; immune balance; inflammatory response

(收稿日期: 2023-12-07; 修回日期: 2024-06-12)

[编辑: 王利芬]