

基于外泌体介导的巨噬细胞极化探讨针刺治疗慢性阻塞性肺疾病的潜在机制

刘路¹, 齐文川¹, 曾倩¹, 周子扬¹, 陈道鸿¹, 高蕾¹, 何斌¹, 蔡定均¹, 余曙光¹, 赵凌^{1,2}

(1. 成都中医药大学针灸推拿学院, 四川 成都 610075; 2. 四川省针灸与时间生物学重点实验室, 四川 成都 610075)

摘要:慢性阻塞性肺疾病(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)以肺结构退行性病变、炎症和纤维化为特征,是危害人类健康的重要呼吸系统疾病。与服用药物相比,针刺能够改善呼吸困难,提高患者的运动耐力以及机体免疫力且副作用较小,但其作用机制尚不明确。炎症机制在 COPD 的发生中十分重要,其中巨噬细胞是重要的炎症参与者,巨噬细胞极化在 COPD 的发病过程中具有关键作用。外泌体为可由多种细胞分泌的纳米级双层膜囊泡,能够介导细胞间或器官间通讯,调节细胞功能或细胞活动。据报道外泌体参与巨噬细胞极化,具有调节炎症的作用。在影响 COPD 发生发展的机制研究中,外泌体作为重要的突破点已受到越来越多的关注。因此主要从外泌体参与巨噬细胞极化角度出发,阐释 COPD 的发病机制以及分析针刺通过调控外泌体,参与巨噬细胞极化,从而治疗 COPD 的可行性。

关键词:针刺;外泌体;COPD;巨噬细胞极化;炎症机制

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1672-0482(2023)01-0093-08

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2023.0093

引文格式:刘路,齐文川,曾倩,等. 基于外泌体介导的巨噬细胞极化探讨针刺治疗慢性阻塞性肺疾病的潜在机制[J]. 南京中医药大学学报,2023,39(1):93-100.

Potential Mechanism of Acupuncture Treatment for Chronic Obstructive Pulmonary Disease Based on Exosome-Mediated Macrophage Polarization

LIU Lu¹, QI Wen-chuan¹, ZENG Qian¹, ZHOU Zi-yang¹, CHEN Dao-hong¹, GAO Lei¹, HE Bin¹, CAI Ding-jun¹, YU Shu-guang¹, ZHAO Ling^{1,2}

(1. Acupuncture and Tuina School, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China; 2. Acupuncture & Chronobiology Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610075, China)

ABSTRACT: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is an important respiratory disease that endangers human health, characterized by degenerative changes, inflammation and fibrosis of lung structure. Compared with taking medicine, acupuncture can improve dyspnea, exercise endurance and immunity of patients with less side effects, but its mechanism is not clear. Inflammatory mechanisms play an important role in the development of COPD, in which macrophages are important inflammatory participants. Macrophages are highly plastic and can polarize into M1-type macrophages and M2-type macrophages when stimulated by the microenvironment. After activation, M1 macrophages can release pro-inflammatory cytokines and have pro-inflammatory effects. M2 macrophages have anti-inflammatory and immunomodulatory functions. Macrophage polarization plays a key role in the pathogenesis of COPD. Exosomes are nanoscale double-membrane vesicles that can be secreted by a variety of cells, which can mediate intercellular or interorgan communication, regulate cell function or cell activity. Exosomes have been reported to be involved in macrophage polarization and have a role in regulating inflammation. As an important breakthrough, exosomes have attracted more and more attention in mechanism study of the development of COPD. Therefore, from the point of view of exosomes participating in macrophage polarization, our study explain the pathogenesis of COPD and analyzes the feasibility of acupuncture in the treatment of COPD by regulating exosomes which participants in macrophage polarization.

KEYWORDS: acupuncture; exosomes; COPD; macrophage polarization; inflammatory mechanism

慢性阻塞性肺疾病(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种严重危害人类健康的常见病,严重影响患者的生命质量,是导致死亡的重要

病因,并给患者带来沉重的经济负担^[1]。慢性阻塞性肺疾病以肺结构退行性病变、炎症和纤维化为特征^[2],通常由慢性支气管炎、黏液高分泌、慢性气道

收稿日期:2022-08-18

基金项目:国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目(ZYYCXTD-D-202003);四川省教育厅中央引导地方科技发展资金项目(21ZYKJCX0008)

第一作者:刘路,女,博士研究生,E-mail:liulu@stu.cdutcm.edu.cn

通信作者:赵凌,女,研究员,博士生导师,主要从事针刺辅助慢性病康复的临床评价及生物学基础研究,E-mail:zhaoling@cdutcm.edu.cn

阻塞、气道重塑和肺气肿引起^[3]。临床上常以咳嗽、咳痰、气短、喘息和胸闷等为主要表现。我国 20 岁以上成人 COPD 患病率为 8.6%, 其中 40 岁以上人群患病率高达 13.7%^[4]。根据全球疾病负担调查, COPD 是我国 2016 年第 5 大死亡原因^[5], 2017 年第 3 大伤残调整寿命年的主要原因^[6]。

1 炎症是 COPD 的关键病理机制

COPD 的发病机制复杂, 近年来, 在原有的氧化应激、炎症机制、蛋白酶/抗蛋白酶失衡以及细胞凋亡等假说基础上, 研究人员还提出了自身免疫反应、微生物组的变化以及无效的受损修复机制等^[7]。其中炎症机制是贯穿 COPD 整个病理进程的关键病理机制, 病变涉及气道、肺实质及肺血管, 由多种细胞和炎症介质参与。细菌、有害颗粒或气体等致病因素进入肺后, 激活炎症细胞, 活化的炎症细胞释放炎症介质, 可直接破坏肺组织或通过靶向位于上皮组织和血液交界处的呼吸上皮募集更多的炎症细胞, 产生更多炎症因子, 增强炎症信号, 产生瀑布样炎症反应, 加速 COPD 病理进程, 影响 COPD 预后^[2-3]。并且炎症反应是启动其他一系列病理进程的始动因子, 系统性炎症反应可破坏细胞外基质, 导致胶原蛋白沉积。炎症刺激破坏气道上皮细胞、胶原纤维、纤毛正常结构, 促进黏液产生, 减弱纤毛清除黏液的功能。反复的炎症刺激造成肺组织损伤和修复的异常, 进而导致气道重塑和肺气肿的形成^[7]。因此, 抑制炎症反应是延缓 COPD 病理进程的重要途径。

而各种炎性细胞在 COPD 中发挥不同作用, 近年来巨噬细胞在 COPD 中的作用逐渐被发掘, 目前已有大量研究证实巨噬细胞在 COPD 的炎症机制中具有关键作用^[8]。大量研究表明外泌体参与 COPD 的发生发展, 可通过调控巨噬细胞功能而影响 COPD 的进展^[9-10]。目前 COPD 的治疗以长期口服激素、使用支气管扩张剂等西药为主, 尽管能改善患者症状, 但伴随着耐药、免疫抑制及骨质疏松等多种不良反应^[11-12]。

针刺是以中医理论为指导防治疾病的一种方法, 注重辨证论治与整体观念相结合, 因证立法, 辨证用穴。在 COPD 的治疗上, 针刺疗法通过刺激相关穴位, 激发人体经气, 调整脏腑功能, 使得肺、脾、肾之气得养而气道通畅, 呼吸均匀和调, 从而达到宣肺定喘、运湿化痰的目的。现代研究表明针刺可减轻 COPD 患者的临床症状, 改善患者的肺功能、生活

质量及提高呼吸肌力量和运动能力等, 并具有简便易行、经济安全等优点, 但其具体机制仍在探索。巨噬细胞在微环境刺激下可极化为 M1 型或 M2 型巨噬细胞, 其中 M1 型极化后可释放促炎细胞因子, 具有促炎作用, 而 M2 型则具有抗炎及免疫调节等功能。研究表明电针可能通过抑制肺泡巨噬细胞向 M1 型极化, 降低 COPD 大鼠肺内炎症反应, 从而改善肺功能^[13]。大量研究发现与针刺效应相关的外泌体表达^[14-16], 提示外泌体可能是解释针刺效应的潜在手段, 其中一项研究提示针刺可能通过调节相关外泌体的释放, 抑制 COPD 小鼠肺组织 NLRP3 炎症体激活, 从而发挥治疗 COPD 的疗效^[16]。因此, 本文旨在从调控外泌体介导的巨噬细胞激活角度探讨针刺治疗慢性阻塞性肺疾病的可行性。

2 巨噬细胞极化参与 COPD 疾病的炎症过程

2.1 巨噬细胞简介

巨噬细胞来源于骨髓源性的单核细胞、卵黄囊和胎儿单核细胞^[17], 在先天免疫和后天免疫中发挥着不可或缺的作用, 是抵御外来入侵的第一道屏障, 并在先天免疫中协调白细胞渗透^[18]。巨噬细胞具有高度可塑性, 在微环境刺激下发生表型和功能上的适应性改变, 即巨噬细胞极化^[19]。研究者通过实验获得 M0 巨噬细胞, 随后将这些 M0 巨噬细胞与特定的表型介质一起孵育, 可以极化为 M1 和 M2 巨噬细胞^[20]。M1 型巨噬细胞又称为经典活化巨噬细胞, 活化后可释放促炎细胞因子、趋化因子、诱导型一氧化氮合酶 (Inducible NO synthase, iNOS) 和活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 等。且 M1 型巨噬细胞可提呈抗原, 发挥免疫防御功能。M2 型巨噬细胞又称为替代活化巨噬细胞, 抗原提呈能力弱, 具有抗炎、促进组织修复、免疫调节等功能。

2.2 巨噬细胞参与 COPD 疾病的炎症过程

在 COPD 发生进展中, 巨噬细胞是重要的参与者, 尤其在慢性炎症的启动阶段具有决定性作用, 也是研制 COPD 抗感染治疗药物的主要靶细胞^[21]。研究者发现巨噬细胞在 COPD 患者的气道内、肺实质内以及肺泡灌洗液和痰液内均显著增加^[22-23]。有研究显示气道中的巨噬细胞数量与 COPD 严重性呈正相关, 曾有文献报道 COPD 动物模型中消耗肺组织巨噬细胞可用来抵抗肺气肿的进展^[24]。在正常肺组织中, 肺泡巨噬细胞大部分是非极化的。随着吸烟和 COPD 严重程度的增加, 巨噬细胞以双极化状态 (M1 和 M2 极化状态) 存在于 COPD 患者肺

组织中,但 M2 的上升速度快于 M1^[25-26]。He 等^[27]发现,肺组织 M2 巨噬细胞的比例与 COPD 小鼠模型的肺功能呈负相关。COPD 肺部炎症的发展会影响气道,使气流受限,导致肺内缺氧。把气道上皮细胞与巨噬细胞共同培养,早期低氧环境刺激气道上皮细胞诱导巨噬细胞向 M1 极化,而长期缺氧后,气道上皮细胞则会刺激巨噬细胞向 M2 极化^[28]。COPD 早期可能是以 M1 为主,以激发适应性免疫反应,清除外来入侵的微生物,而在 COPD 中后期,由于炎症反应的持续发展,为了维护机体稳态,M2 将发挥抗炎作用,以抑制过度的炎症反应^[29-30]。

3 外泌体介导巨噬细胞极化参与 COPD 发病过程

3.1 外泌体参与 COPD 发病

细胞外囊泡是一种直径为 20~1 000 nm 的球形双层蛋白脂质体,目前被分为微泡、外泌体和凋亡小体^[31]。其中外泌体大小约为 30~100 nm,机体内几乎所有的细胞均可以分泌外泌体^[32]。外泌体包含独特的 microRNA、信使 RNA 和蛋白质^[33],外泌体能够介导细胞间或器官间通讯,调节细胞功能或细胞活动,如炎症^[34]、细胞凋亡^[31]和免疫反应^[35]等。多项研究表明,外泌体在 COPD 的发生和发展中起着重要作用,包括肺实质和周围小气道炎症(慢性支气管炎)、肺组织变性(肺气肿)和小气道重塑,导致肺功能下降^[36-38]。各种体液(包括血清、血浆和支气管肺泡灌洗液)中的外泌体 miRNAs 可作为 COPD 早期诊断、判断病情严重程度和预后的特异性生物标志物^[2, 39]。综上所述,外泌体参与了 COPD 发生发展的进程,并且能够作为诊断和治疗的生物标记物。在肺部炎症性疾病中,外泌体激活了固有免疫系统(如肺泡巨噬细胞)从而促进了肺部炎症^[40]。并且在 COPD 中,外泌体也参与了巨噬细胞极化过程,促进肺部炎症,从而参与 COPD 的发病进程。

3.2 上皮细胞来源外泌体参与巨噬细胞极化影响 COPD 发病过程

巨噬细胞不断接收来自周围或远处细胞的信号以实现巨噬细胞 M1 极化或 M2 极化,肺上皮细胞和肺泡巨噬细胞之间通过外泌体介导的信号传递进行细胞间的双向通讯,在对无菌刺激(如高氧或酸吸入)的反应中,肺泡巨噬细胞从上皮细胞来源外泌体中接收“促炎”信号,随后促进 M1 极化和巨噬细胞迁移增加^[41-42]。另一项研究通过体外实验发现,来自香烟烟雾提取物处理的小鼠气道上皮细胞的外

泌体通过上调髓样细胞-1 表达的触发受体促进 M1 巨噬细胞极化,从而加重 COPD 的发展^[10]。Chen 等通过体外研究发现,香烟烟雾提取物处理后的支气管上皮细胞来源的外泌体不仅可以增加 CD86⁺、CD80⁺、CD163⁺和 CD206⁺细胞的百分比,还可以诱导肿瘤坏死因子、白介素 6、iNOS、白介素 10、精氨酸酶 1 和转化生长因子- β ,表明 RAW264.7 巨噬细胞的 M1 和 M2 极化都在增加^[43],这与 He 等的研究结果相反,He 等发现香烟烟雾提取物处理后的支气管上皮细胞衍生的外泌体通过减轻 M2 巨噬细胞极化,减轻了参与 COPD 发病机制的上皮-间质转化的进程^[9]。两项研究结果相悖的原因可能是因为在 He 等的研究中,巨噬细胞与外泌体共培养了 48 h,而在 Chen 等的研究中,巨噬细胞与外泌体共培养了 24 h。可能是由于巨噬细胞的应激反应,M2 巨噬细胞在短期内显著增高,促进炎症的消失,这与 Feng 等的研究结果一致,Feng 等发现暴露于香烟烟雾提取物 9~24 h,大鼠肺泡和腹腔巨噬细胞向 M2 极化^[44]。

3.3 巨噬细胞来源外泌体调控巨噬细胞极化参与 COPD

不仅上皮细胞来源的外泌体能够激活巨噬细胞,参与 COPD 发病过程,巨噬细胞来源的外泌体在 COPD 的发病过程中也十分重要。首先,巨噬细胞来源的外泌体通过介导 miR-223 诱导未成熟单核细胞分化为巨噬细胞^[45]。然后,外泌体 miR-17 和 miR-221 通过介导整合素 β 促进巨噬细胞迁移^[46]。最后外泌体 miR-221 和 miR-320 刺激促炎细胞因子的分泌,从而激活肺泡巨噬细胞^[41]。在这一系列的分化、迁移和激活后,肺泡巨噬细胞募集中性粒细胞、Th1 和 Tc1,促进了 COPD 肺部炎症^[47]。综上所述,外泌体通过介导巨噬细胞极化参与 COPD 肺部慢性炎症,在 COPD 的发病及进展中有十分重要的作用。

4 针刺通过调控巨噬细胞极化治疗 COPD

4.1 针刺治疗 COPD 疗效确切

针刺治疗 COPD 不仅疗效确切,而且还具有刺激温和、无毒副作用、简便易行等特点,临床上普遍被患者所接受。COPD 患者在接受针刺治疗后,其 6 min 步行距离和呼吸困难等症状得到改善,同时还可以提高患者的运动耐力以及机体免疫力^[48-51]。多项系统评价也表明针刺对 COPD 患者有效,能够改善患者肺功能及生活质量^[52-53]。动物实验也发现针刺具有较好的抗炎作用,其可降低 COPD 大鼠

肺组织及支气管肺泡灌洗液内促炎细胞因子的表达水平^[54-55],抑制 COPD 大鼠肺部炎症反应的加重,减轻肺损伤^[56],改善大鼠肺功能。目前,针刺治疗 COPD 的机制研究主要以炎症机制^[57]、免疫机制^[58-59]为主,其次是氧化应激机制^[60]和蛋白酶抗蛋白酶失衡机制^[61],针刺是否通过其他机制治疗 COPD 还需要进一步研究^[62]。

4.2 针刺调控炎症性疾病巨噬细胞极化过程

近年来研究表明,针刺参与调节炎症性疾病的巨噬细胞极化过程。针刺的抗炎效应可通过降低炎症性疾病中 M1 的表达水平,增加 M2 的表达水平以维持 M1/M2 极化平衡,从而缓解炎症的持续加重,起到保护组织等作用。其中,Song 等发现连续 6 d 电针足三里穴可降低结肠炎小鼠结肠组织中的 M1 比例,增加 M2 比例^[63]。研究发现,肥胖小鼠脂肪组织巨噬细胞中 iNOS 和肿瘤坏死因子的表达水平较正常小鼠明显升高,CD206 和白介素 10 的表达水平明显降低,而经 8 周针刺关元、足三里和胃脘下俞穴治疗后,肥胖小鼠脂肪巨噬细胞中 iNOS 和肿瘤坏死因子表达量降低,CD206 和白介素 10 的表达量升高,脂肪炎症反应得到减轻,表明针刺可通过降低肥胖小鼠脂肪组织巨噬细胞中 M1 的表达,增加 M2 的表达以改善炎症反应^[64]。关节炎模型大鼠炎症踝关节中的 M1 巨噬细胞数量显著增高,而经 4 周针刺足三里穴治疗后,关节炎模型大鼠炎症踝关节 M1 巨噬细胞数量显著降低,而 M2 巨噬细胞比例略有增加^[65]。以上研究表明针刺能够调控炎症性疾病巨噬细胞极化过程,而 COPD 也是炎症性疾病之一,且炎症机制是贯穿其病理过程的核心病理机制。针刺对炎症性疾病巨噬细胞极化过程的调控提示针刺可能参与调控 COPD 巨噬细胞的极化过程。

4.3 针刺调节 COPD 巨噬细胞极化过程

李尹等发现了电针干预足三里和肺俞穴后,COPD 大鼠肺泡 M1 型巨噬细胞极化相关标志物的表达下调,M1 型巨噬细胞极化被抑制,从而改善了大鼠的肺功能以及肺部炎症反应^[13],李尹等还发现了电针后不仅能抑制 M1 极化,还能增强 M2 极化,达到调节 COPD 大鼠肺泡巨噬细胞的 M1/M2 极化平衡,从而改善肺部炎症反应。上述研究表明针刺参与调节炎症性疾病的巨噬细胞极化过程,并且针刺可通过参与 COPD 巨噬细胞极化过程改善大鼠肺功能及肺部炎症反应,但其具体过程还有待探索。

5 针刺通过调控外泌体发挥疗效

5.1 外泌体在针刺效应机制中的作用

外泌体可携带大量胞内交流信息,是细胞间通讯的必要信使,在免疫、内分泌、神经不同细胞和系统间交流起转输作用^[66]。Ding 等^[67]提出针刺对神经-内分泌-免疫网络有一定的调节作用。外泌体特殊的功能特点使得其与针刺效应机制关系密切。陈波等^[68]提出传导针刺信息、传导网络调节作用的重要生物学基础是外泌体。一项研究发现穴位局部外泌体参与针刺效应启动的过程^[69],针刺引起穴位局部肥大细胞功能激活,释放肥大细胞源性外泌体,肥大细胞源性外泌体内包含了许多类别的信号分子,促进周围神经末梢感受器兴奋,释放了很多化学物质,从而启动针刺效应^[70]。刘小亚^[71]提出外泌体在针灸起效机制中主要包含三个方面的作用:广泛地接收并回应信号、充当信使,传导针刺信号以及自稳态系统分泌的外泌体能刺激针灸双向调节机制,维持体内平衡。

5.2 外泌体参与针刺抗炎效应

李牧洋等^[69]发现电针足三里和环跳穴可促进正常大鼠血清外泌体释放,并且电针显著降低了关节炎模型大鼠急性发作时与炎症关系密切的外泌体的释放。叶静通过检测血清外泌体 microRNA 在针刺前后的变化趋势,以此来探索外泌体 microRNA 在针刺治疗膝骨性关节炎过程中发挥的作用。结果发现针刺治疗膝骨性关节炎的机制,可能是通过下调血清外泌体 miR-1228-5p、miR-1296-5p、miR-3168 表达以及调控细胞凋亡自噬、凋亡代谢、MAPK 信号通路等方式发挥作用^[72]。从上述研究中可知,针刺对炎症反应的影响是通过改变外泌体及其内含物质的表达水平,从而导致抗炎物质或促炎物质的释放而起到调节炎症的作用,这样的调控拥有双向影响的作用^[73]。外泌体还能反映针刺对细胞代谢的调控^[74],以及对神经功能的调控^[14, 75]。以上研究均证明,针刺能够调节外泌体的释放,提示外泌体可能是解释针刺效应的潜在手段。近来,Zou 等使用猪胰腺弹性蛋白酶诱导的小鼠肺气肿模型,研究针刺是否抑制肺组织 NLRP3 炎症小体的形成和激活,抑制炎症外泌体的释放,从而改善猪胰腺弹性蛋白酶诱导肺气肿期间的肺部炎症和慢性损伤。研究结果提示肺组织 NLRP3 炎症小体激活和相关的外泌体释放可能是介导肺气肿发展过程中肺部炎症和退行性损伤的重要致病机制,电针肺俞和足三里能

够抑制肺气肿小鼠的肺组织 NLRP3 炎症激活和相关外泌体释放,这可能与其在肺气肿期间抑制肺部炎症的作用有关^[16]。

6 针刺可能通过调控外泌体参与巨噬细胞极化治疗 COPD

6.1 针刺可能通过调控外泌体参与巨噬细胞极化治疗 COPD 研究现状

现有研究结果证明,针刺可能通过调节巨噬细

胞极化,抑制炎症,从而改善 COPD 期间的肺部炎症和慢性损伤,而其中具体机制可能是通过针刺调控特定外泌体,参与了巨噬细胞的极化,从而发挥了抗炎功效,改善了肺部慢性损伤(图1)。目前尚无直接从外泌体参与巨噬细胞极化角度探索针刺治疗 COPD 的潜在机制的研究。但是,大量的研究已经间接提示针刺可能通过调控特定外泌体,参与巨噬细胞的极化,抑制 COPD 期间肺部炎症和慢性损伤。

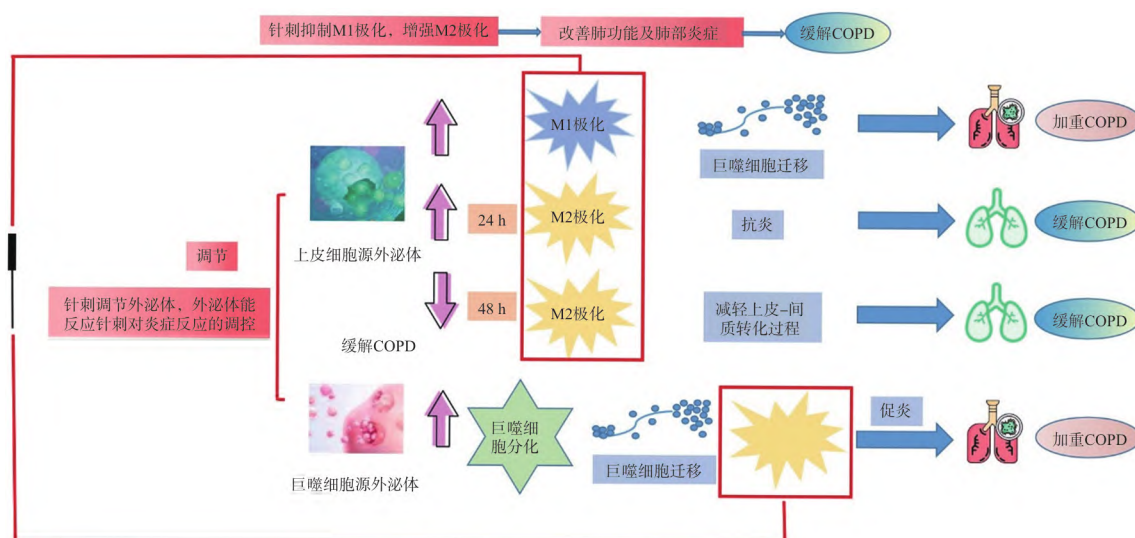


图1 针刺可能通过调控外泌体参与巨噬细胞极化过程治疗 COPD

Fig. 1 Acupuncture's possible therapeutic mechanism in COPD treatment may be involved in macrophage polarization through modulating exosomes

6.2 未来研究设想及实现路径

针刺可通过调控炎症反应发挥治疗作用,但其对 COPD 炎症的调控机制仍有待深入研究。炎症机制是 COPD 的核心发病机制之一,而外泌体介导的巨噬细胞极化是 COPD 炎症过程的重要参与者,也是研究热点之一,对其深入研究可为针刺抗炎机制提供新的证据。在未来的研究中,首先可通过临床试验,收集 COPD 患者在针刺治疗前后的肺泡灌洗液,从中分选出巨噬细胞,通过体外细胞培养,搜集细胞分泌的外泌体,结合高通量测序技术筛选出关键的外泌体小分子(例如 circ-RNA, microRNA 和 lncRNA 等),这些外泌体小分子是针刺发挥疗效的关键靶点。在临床试验的基础上,可开展动物实验,结合外泌体分离技术、流式细胞术验证针刺对

COPD 外泌体分泌和巨噬细胞极化的调控作用。然后进一步设计实验,敲低或过表达关键外泌体,寻找针刺调控巨噬细胞极化的分子通路。最后设计分子实验,结合细胞培养,免疫荧光等技术观察针刺通过调控外泌体参与巨噬细胞的极化的过程。

如图2所示,针刺可能调节 COPD 患者体内特定外泌体的分泌,抑制巨噬细胞激活,从而发挥抗炎、改善肺部慢性损伤以及缓解 COPD 患者临床症状的作用。针刺治疗 COPD 疗效确切,从外泌体介导的巨噬细胞极化角度切入,可为针刺的抗炎机制提供新的科学证据。有利于促进针刺治疗 COPD 临床疗效提升和应用推广。同时,外泌体也可作为诊断 COPD 以及检测针刺疗效的客观生物标志物,为后续进一步研究奠定基础。



图 2 从外泌体-巨噬细胞极化角度研究针刺治疗 COPD 的潜在机制

Fig. 2 Investigation of the potential mechanism of acupuncture in treating COPD from the perspective of exosomes-macrophage polarization

参考文献:

- [1] 李建生. 国际中医临床实践指南:慢性阻塞性肺疾病[J]. 世界中医药, 2020, 15(7): 1084-1092.
LI JS. International clinical practice guideline of Chinese medicine chronic obstructive pulmonary disease[J]. World Chin Med, 2020, 15(7): 1084-1092.
- [2] ROH JA, KIM KI, PARK J, et al. The efficacy of manual therapy (Chuna) for chronic obstructive pulmonary disease: Protocol for a systematic review[J]. Medicine, 2020, 99(9): e18832.
- [3] 陈亚红. 2021 年 GOLD 慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗及预防全球策略解读[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(1): 16-37.
CHEN YH. Interpretation of global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease 2021 report[J]. Chin J Front Med Sci Electron Version, 2021, 13(1): 16-37.
- [4] WANG C, XU JY, YANG L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): A national cross-sectional study [J]. Lancet, 2018, 391(10131): 1706-1717.
- [5] NAGHAVI M, ABAJOBIR AA, ABBAFATI C, et al. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. Lancet, 2017, 390(10100): 1151-1210.
- [6] ZHOU MG, WANG HD, ZENG XY, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. Lancet, 2019, 394(10204): 1145-1158.
- [7] BAGDONAS E, RAUDONIUTE J, BRUZAUSKAITE I, et al. Novel aspects of pathogenesis and regeneration mechanisms in COPD [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2015, 10: 995-1013.
- [8] BARNES PJ. COPD 2020: New directions needed[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2020, 319(5): L884-L886.
- [9] HE SY, CHEN DN, HU MY, et al. Bronchial epithelial cell extracellular vesicles ameliorate epithelial-mesenchymal transition in COPD pathogenesis by alleviating M2 macrophage polarization [J]. Nanomed Nanotechnol Biol Med, 2019, 18: 259-271.
- [10] WANG LJ, CHEN Q, YU Q, et al. Cigarette smoke extract-treated airway epithelial cells-derived exosomes promote M1 macrophage polarization in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 96: 107700.
- [11] LABAKI WW, ROSENBERG SR. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. Ann Intern Med, 2020, 173(3): ITC17-ITC32.
- [12] 李正欢, 张晓云, 陈杨, 等. 2020 年慢性阻塞性肺疾病全球倡议《COPD 诊断、治疗与预防全球策略》指南解读(一): 稳定期药物管理[J]. 中国全科医学, 2021, 24(8): 923-929.
LI ZH, ZHANG XY, CHEN Y, et al. Interpretation of the 2020 GOLD's global strategy for Prevention, diagnosis and management of COPD (I): Pharmacological treatment of stable COPD [J]. Chin Gen Pract, 2021, 24(8): 923-929.
- [13] 李尹, 张新芳, 刘自兵, 等. 电针对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺泡巨噬细胞 M1 极化的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(3): 173-179.
LI Y, ZHANG XF, LIU ZB, et al. Effect of electroacupuncture on pulmonary function and M1 polarization of alveolar macrophages in rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Acupunct Res, 2020, 45(3): 173-179.
- [14] CHEN B, LI MY, GUO Y, et al. Mast cell-derived exosomes at the stimulated acupoints activating the neuro-immune regulation [J]. Chin J Integr Med, 2017, 23(11): 878-880.
- [15] HUANG Y, YU MS, KUMA A, et al. Downregulation of let-7 by electrical acupuncture increases protein synthesis in mice [J]. Front Physiol, 2021, 12: 697139.
- [16] ZOU Y, BHAT OM, YUAN XX, et al. Release and actions of inflammatory exosomes in pulmonary emphysema: Potential therapeutic target of acupuncture [J]. J Inflamm Res, 2021, 14: 3501-3521.
- [17] 周琦, 孙慧娟, 于栋华, 等. 巨噬细胞 M1/M2 型极化在不同疾病中的作用机制[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(11): 1502-1506.
ZHOU Q, SUN HJ, YU DH, et al. Mechanisms of M1/M2 macrophage polarization in different diseases[J]. Chin Pharmacol Bull, 2020, 36(11): 1502-1506.
- [18] ARORA S, DEV K, AGARWAL B, et al. Macrophages: Their role, activation and polarization in pulmonary diseases[J]. Immunobiology, 2018, 223(4/5): 383-396.
- [19] 贾瑞, 惠毅, 闫曙光, 等. 巨噬细胞 M1/M2 型极化与免疫炎症性疾病关系的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(22): 2791-2797.
JIA R, HUI Y, YAN SG, et al. Research progress on relationship between macrophage M1/M2 polarization and immune inflammatory diseases[J]. Chin J Immunol, 2021, 37(22): 2791-2797.
- [20] GENIN M, CLEMENT F, FATTACCIOLI A, et al. M1 and M2 macrophages derived from THP-1 cells differentially modulate the response of cancer cells to etoposide[J]. BMC Cancer, 2015, 15: 577.
- [21] 王青青, 荣令. COPD 中炎症细胞及分子机制的研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(12): 2258-2262.
WANG QQ, RONG L. Research progress of inflammatory cells and molecular mechanism in COPD[J]. J Clin Pulm Med, 2019, 24(12): 2258-2262.
- [22] PESCI A, BALBI B, MAJORI M, et al. Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Eur Respir J, 1998, 12(2): 380-386.
- [23] KEATINGS VM, COLLINS PD, SCOTT DM, et al. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1996, 153(2): 530-534.
- [24] BECKETT EL, STEVENS RL, JARNICKI AG, et al. A new short-term mouse model of chronic obstructive pulmonary disease identifies a role for mast cell tryptase in pathogenesis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2013, 131(3): 752-762. e7.

- [25] BAZZAN E, TURATO G, TINÈ M, et al. Dual polarization of human alveolar macrophages progressively increases with smoking and COPD severity[J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 40.
- [26] LI NN, LIU Y, CAI JF. LncRNA MIR155HG regulates M1/M2 macrophage polarization in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117: 109015.
- [27] HE S, XIE L, LU J, et al. Characteristics and potential role of M2 macrophages in COPD[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12: 3029–3039.
- [28] 陈兴无, 邢敏, 秦立龙, 等. 气道上皮细胞对巨噬细胞表型和吞噬功能的影响及 HIF-1 α 的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(1): 141–149.
- CHEN XW, XING M, QIN LL, et al. Effects of airway epithelial cells on phenotype and phagocytosis of macrophages and roles of HIF-1 α [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2019, 35(1): 141–149.
- [29] 李尹, 鲁静, 张毅, 等. 巨噬细胞极化及其在慢性阻塞性肺疾病中的作用[J]. *生理学报*, 2019, 71(4): 604–612.
- LI Y, LU J, ZHANG Y, et al. Macrophages polarization and their role in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Acta Physiol Sin*, 2019, 71(4): 604–612.
- [30] LIU L, QIN YQ, CAI ZH, et al. Effective-components combination improves airway remodeling in COPD rats by suppressing M2 macrophage polarization via the inhibition of mTORC2 activity[J]. *Phytomedicine*, 2021, 92: 153759.
- [31] BARUAH J, WARY KK. Exosomes in the regulation of vascular endothelial cell regeneration[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 353.
- [32] WANG YL, LIU LC, HUNG Y, et al. Long non-coding RNA HOTAIR in circulatory exosomes is correlated with ErbB2/HER2 positivity in breast cancer[J]. *Breast*, 2019, 46: 64–69.
- [33] HEO J, KANG H. Exosome-based treatment for atherosclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 1002.
- [34] CHAN BD, WONG WY, LEE MML, et al. Exosomes in inflammation and inflammatory disease[J]. *Proteomics*, 2019, 19(8): e1800149.
- [35] CHENG XF, ZHANG GY, ZHANG L, et al. Mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-21 via exosomes to inhibit nucleus pulposus cell apoptosis and reduce intervertebral disc degeneration[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(1): 261–276.
- [36] GOMEZ-CABRERO D, MENCHE J, VARGAS C, et al. From comorbidities of chronic obstructive pulmonary disease to identification of shared molecular mechanisms by data integration[J]. *BMC Bioinform*, 2016, 17(15): 441.
- [37] HOBBS BD, HERSH CP. Integrative genomics of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452(2): 276–286.
- [38] WAHLUND CJE, EKLUND A, GRUNEWALD J, et al. Pulmonary extracellular vesicles as mediators of local and systemic inflammation[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 5: 39.
- [39] XU H, LING M, XUE JC, et al. Exosomal microRNA-21 derived from bronchial epithelial cells is involved in aberrant epithelium-fibroblast cross-talk in COPD induced by cigarette smoking[J]. *Theranostics*, 2018, 8(19): 5419–5433.
- [40] GUIOT J, STRUMAN I, LOUIS E, et al. Exosomal miRNAs in lung diseases: From biologic function to therapeutic targets[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(9): 1345.
- [41] LEE H, ZHANG D, ZHU ZW, et al. Epithelial cell-derived microvesicles activate macrophages and promote inflammation via microvesicle-containing microRNAs[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35250.
- [42] LEE H, ABSTON E, ZHANG D, et al. Extracellular vesicle: An emerging mediator of intercellular crosstalk in lung inflammation and injury[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 924.
- [43] CHEN Z, WU H, SHI R, et al. miRNAomics analysis reveals the promoting effects of cigarette smoke extract-treated Beas-2B-derived exosomes on macrophage polarization[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 572: 157–163.
- [44] FENG HS, YIN Y, REN Y, et al. Effect of CSE on M1/M2 polarization in alveolar and peritoneal macrophages at different concentrations and exposure *in vitro*[J]. *In Vitro Cell Dev Biol-Animal*, 2020, 56(2): 154–164.
- [45] ISMAIL N, WANG Y, DAKHLALLAH D, et al. Macrophage microvesicles induce macrophage differentiation and miR-223 transfer[J]. *Blood*, 2013, 121(6): 984–995.
- [46] LEE H, ZHANG D, WU JX, et al. Lung epithelial cell-derived microvesicles regulate macrophage migration via microRNA-17/221-induced integrin β_1 recycling[J]. *J Immunol*, 2017, 199(4): 1453–1464.
- [47] HOUGH KP, CHANDA D, DUNCAN SR, et al. Exosomes in immunoregulation of chronic lung diseases[J]. *Allergy*, 2017, 72(4): 534–544.
- [48] 代利利, 李秋芬, 倪光夏. 针刺五脏俞治疗慢性阻塞性肺疾病合并焦虑、抑郁临床观察[J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 47(12): 151–153.
- DAI LL, LI QF, NI GX. Observation of clinical effect of acupuncture on five-Zang back Shu points for treating COPD complicated with anxiety or depression[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2020, 47(12): 151–153.
- [49] 陈年环. 针刺治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期的临床疗效及对患者肺功能、健康状况的影响[J]. *河北中医*, 2018, 40(3): 434–437.
- CHEN NH. Clinical efficacy of acupuncture in treating stable chronic obstructive pulmonary disease and its influence on patients' lung function and health status[J]. *Hebei J Tradit Chin Med*, 2018, 40(3): 434–437.
- [50] 何颖, 李桂元, 郑则广, 等. 电针对稳定期慢性阻塞性肺疾病患者小气道功能的影响[J]. *中国针灸*, 2021, 41(8): 861–865, 875.
- HE Y, LI GY, ZHENG ZG, et al. Effect of electroacupuncture on small airway function in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2021, 41(8): 861–865, 875.
- [51] 袁思成, 芮庆林. 针灸疗法辅助治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期研究进展[J]. *中国中医急症*, 2020, 29(1): 165–167, 181.
- YUAN SC, RUI QL. Research progress of acupuncture and moxibustion in the treatment of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2020, 29(1): 165–167, 181.
- [52] WANG JJ, LI JS, YU XQ, et al. Acupuncture therapy for functional effects and quality of life in COPD patients: A systematic review and Meta-analysis[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 3026726.
- [53] FERNÁNDEZ-JANE C, VILARO J, FEI YT, et al. Filiform needle acupuncture for copd: A systematic review and meta-analysis[J]. *Complementary Ther Med*, 2019, 47: 102182.
- [54] MA JD, TIAN YG, LI JS, et al. Effect of Bufei yishen granules combined with electroacupuncture in rats with chronic obstructive pulmonary disease via the regulation of TLR-4/NF- κ B signaling[J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2019, 2019: 6708645.
- [55] 官锦帅, 刘雪梅, 樊涛, 等. 针刺足三里对 COPD 大鼠血浆多巴胺和肺功能的影响[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2019, 50(2): 203–209.
- GUAN JS, LIU XM, FAN T, et al. Effects of acupuncture at Zusanli on plasma dopamine and lung function of rats with COPD[J]. *J Sichuan Univ Med Sci Ed*, 2019, 50(2): 203–209.
- [56] GENG WY, LIU ZB, SONG NN, et al. Effects of electroacupuncture

- ture at Zusanli (ST36) on inflammatory cytokines in a rat model of smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Integr Med*, 2013, 11(3): 213-219.
- [57] LIU X, FAN T, FU J, et al. The relationship between nod-like receptor family pyrin domain containing 3 inflammasome and dopamine in the inflammation regulation mechanism of acupuncture for chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 197: 1-23.
- [58] 陈建飞, 罗伟贤, 周鸿飞. 不同针刺频率对稳定期慢性阻塞性肺病患者呼吸功能及免疫状态的影响[J]. *世界中医药*, 2018, 13(11): 2839-2842.
- CHEN JF, LUO WX, ZHOU HF. Effects of different acupuncture frequency on respiratory function and immune status in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease[J]. *World Chin Med*, 2018, 13(11): 2839-2842.
- [59] 童娟, 陈福初, 李桂元, 等. 电针对慢性阻塞性肺病肌营养不良大鼠的抗炎免疫调节作用[J]. *针刺研究*, 2018, 43(4): 236-241, 246.
- TONG J, CHEN FC, LI GY, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of electro-chronic obstructive pulmonary disease muscular dystrophy rats[J]. *Acupunct Res*, 2018, 43(4): 236-241, 246.
- [60] 吉紫乐, 谢洋, 王艳, 等. 针刺治疗慢性阻塞性肺疾病作用机制的文献分析[J]. *中医杂志*, 2021, 62(22): 2003-2010.
- JI ZL, XIE Y, WANG Y, et al. Literature analysis on the mechanism of acupuncture in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Tradit Chin Med*, 2021, 62(22): 2003-2010.
- [61] 骆言, 黄学宽, 吴忠练, 等. 电针对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺组织基质金属蛋白酶 9 及组织金属蛋白酶抑制剂 1 表达的影响[J]. *针刺研究*, 2014, 39(5): 367-371.
- LUO Y, HUANG XK, WU ZL, et al. Effects of electroacupuncture intervention on expression of pulmonary metalloproteinase-9 and tissue inhibitor-1 proteins in rats with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Acupunct Res*, 2014, 39(5): 367-371.
- [62] ZHANG XF, ZHU J, GENG WY, et al. Electroacupuncture at Feishu (BL13) and Zusanli (ST36) down-regulates the expression of orexins and their receptors in rats with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Integr Med*, 2014, 12(5): 417-424.
- [63] SONG SN, AN J, LI YL, et al. Electroacupuncture at ST-36 ameliorates DSS-induced acute colitis via regulating macrophage polarization induced by suppressing NLRP3/IL-1 β and promoting Nrf2/HO-1[J]. *Mol Immunol*, 2019, 106: 143-152.
- [64] 张思依, 胡霞, 唐宏图. 针刺对高脂饮食诱导的肥胖小鼠白色脂肪组织巨噬细胞极化的影响[J]. *中国针灸*, 2017, 37(11): 1205-1211.
- ZHANG SY, HU X, TANG HT. Effect of acupuncture on macrophage polarization of white adipose tissue in obese mice induced by high-fat diet[J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2017, 37(11): 1205-1211.
- [65] YANG FM, GONG YN, YU NN, et al. ST36 acupuncture alleviates the inflammation of adjuvant-induced arthritic rats by targeting monocyte/macrophage modulation[J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2021, 2021: 9430501.
- [66] VAN DIEST SA, STANISOR OI, BOECKXSTAENS GE, et al. Relevance of mast cell-nerve interactions in intestinal nociception[J]. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis*, 2012, 1822(1): 74-84.
- [67] DING SS, HONG SH, WANG C, et al. Acupuncture modulates the neuro-endocrine-immune network[J]. *QJM*, 2013, 107(5): 341-345.
- [68] 陈波, 李柠岑, 郭义, 等. Exosome 在针刺信息传导中的网络调节作用探讨[J]. *辽宁中医杂志*, 2019, 46(3): 605-607, 671.
- CHEN B, LI NC, GUO Y, et al. Exosome network adjusting action research in acupuncture information transmission[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2019, 46(3): 605-607, 671.
- [69] CHEN B, LI MY, XING LY, et al. Participation of local exosomes of acupoints in the initiation of acupuncture analgesic effect[J]. *World J Acupunct Moxibust*, 2018, 28(4): 263-267, 312.
- [70] 陈波, 李明月, 郭义, 等. 肥大细胞源性外来体参与构建针刺穴位效应启动小网络的探讨[J]. *针刺研究*, 2015, 40(1): 82-85.
- CHEN B, LI MY, GUO Y, et al. Mast cell-derived exosome participates in acupoint-stimulation initiated local network activities[J]. *Acupunct Res*, 2015, 40(1): 82-85.
- [71] 刘小亚. Exosome 在针灸参与自稳态调节机制中的作用探讨[J]. *现代盐化工*, 2021, 48(3): 104-105, 108.
- LIU XY. Discussion on the role of Exosome in acupuncture and moxibustion participating in homeostasis regulation mechanism[J]. *Mod Salt Chem Ind*, 2021, 48(3): 104-105, 108.
- [72] 叶静. 针刺对膝骨性关节炎患者血清外泌体 microRNA 的调控机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2019. YE J. Regulation mechanism of serum exosome microRNA in patients with knee osteoarthritis by acupuncture[D]. Chengdu: Chengdu Univ Chin Med, 2019.
- [73] 匡泓俊, 黄文豪, 李星慧, 等. 针灸效应机制中外泌体的研究进展[J]. *山东中医药大学学报*, 2021, 45(5): 707-711.
- KUANG HJ, HUANG WH, LI XH, et al. Research progress of exosomes in the action mechanism of acupuncture and moxibustion[J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med*, 2021, 45(5): 707-711.
- [74] KLEIN JD, WANG XH. Electrically stimulated acupuncture increases renal blood flow through exosome-carried miR-181[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 315(6): F1542-F1549.
- [75] ZHANG S, JIN T, WANG L, et al. Electro-acupuncture promotes the differentiation of endogenous neural stem cells via exosomal microRNA 146b after ischemic stroke[J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 223.

(编辑:董宇)