

基于骨髓间充质干细胞功能阐释中医药治疗哮喘的作用机理*

贺红娟¹, 吉晓妍¹, 王笑雨¹, 曹利华¹, 王真真¹, 苗明三^{2**}

(1. 河南中医药大学中医科学院 郑州 450046; 2. 河南中医药大学药学院
豫药全产业链研发河南省协同创新中心 郑州 450046)

摘要:中医理论认为哮喘的病机在于肾精亏虚。很多补肾药物可以调节免疫抑制哮喘的发生。肾为先天之本,肾是“藏精之所,主骨生髓”,肾充则髓实,它的充盈关系到各脏腑气血的盛衰。肾充则髓实理论与骨髓间充质干细胞(Bone mesenchymal stem cells, BMSCs)的分化修复潜能有着很多相似之处。BMSCs 迁移入肺可以抑制哮喘的发生发展,补肾药对 BMSCs 的增殖分化及迁移有明显调节作用,因此笔者认为补肾药物可能通过刺激 BMSCs 的迁移影响肺上皮细胞抑制哮喘的发生。本研究将基于 BMSCs 功能在哮喘治疗中的作用进行探讨,并分析中医药治疗哮喘的作用机制与调节 BMSCs 的功能相关。

关键词:哮喘 骨髓间充质干细胞 肾精 中医药 作用机制

doi: 10.11842/wst.20230701005 中图分类号: R256.12 文献标识码: A

哮喘是一种呼吸道的慢性炎症性疾病,一种伴有气流阻塞的复杂异质性疾病,涉及肥大细胞、嗜酸性粒细胞和上皮细胞等多种细胞的参与,引起气道炎症和气道重塑。在全球范围内哮喘的患病率为1%~18%,我国的患病人数达到4000万以上^[1]。目前《全球哮喘防治倡议(GINA)》推荐以吸入糖皮质激素和扩张支气管等对症处理为主的症状缓解药物作为一线治疗方案。但是长期使用激素会引起一些不良反应,且临床上仍有10%~20%的难治性哮喘患者,因此针对激素抵抗型的哮喘患者的治疗是研究的难点和重点。

中医药在哮喘的治疗上有着丰富的临床经验,中医认为哮喘的病机在于痰饮伏肺,久治不愈的根源在于肾精亏虚。哮喘患者脏腑阴阳失调,肺脾肾三脏亏虚,肺气虚则津液不布,脾气虚则难以运化,肾气虚则水湿上溢形成伏痰,故哮喘治疗的重要原则就是补肾益肺调脾。在哮喘的不同分期需采取不同的治疗方

式:在急性发作期,治疗以止咳平喘,祛风、通络解痉为主;在缓解期标本兼治,其治疗方剂偏于止咳化痰,肺热证候者需注意清热,而脾虚痰盛证在化痰的同时须补益脾肾;在稳定期则需要固本防哮、补肾健脾,防止其发作^[2]。

近年来的研究发现骨髓间充质干细胞(Bone mesenchymal stem cells, BMSCs)的归巢影响哮喘的发生发展,在哮喘的治疗领域被广泛研究。BMSCs可能调节哮喘小鼠的肺功能、抑制炎症因子表达^[3]。研究发现,具有补肾功能的中药对 BMSC 功能具有一定的调节作用,如补肾生血药抑制小鼠 BMSCs 的凋亡并促进其增殖,旱莲促进 BMSCs 细胞的增殖及成骨分化^[3-4],黄芩及补骨脂提取物调节 BMSCs 功能抑制 BMSCs 细胞的凋亡,五味子提取物促进 BMSCs 增殖、成骨分化和自噬作用^[4-5]。近年来, BMSCs 细胞参与器官损伤修复作为一种有潜力的治疗方案引起了人们的极大研究兴趣^[6]。有研究证实青藤碱通过调节间充

收稿日期:2023-07-01

修回日期:2023-12-28

* 河南省科学技术厅科技攻关项目(242102310312):骨髓间充质干细胞外泌体抑制哮喘小鼠气道重塑的机制及 miRNA 潜在治疗靶点的研究,负责人:贺红娟。

** 通讯作者:苗明三,教授,主要研究方向:中药药理学。

质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)外泌体改善肾纤维化^[7]。但是目前没有研究证实药物通过调节BMSCs细胞功能改善哮喘的机制研究。本研究将基于BMSCs的功能探讨中医药在哮喘治疗中的作用并分析其作用机制。

1 哮喘的病机在于肾精不足

中医认为,哮喘归属于“哮病”“宿痰”范畴,宿痰伏肺、痰阻气道以致气道痉挛引起气喘发作,久治不愈的夙根在于肾精亏虚^[8]。《素问·阴阳应象大论》指出“肾生骨髓”,髓藏于骨腔之中,所谓“肾充则髓实”。《素问·痿论》:“肾主身之骨髓。”精生髓,髓可化血,在《景岳全书-血证》中记载“人之初生,必从精始,血即精之属也,但精藏于肾,所蕴不多,而血富于冲,所至皆是”。中医认为,肾藏精,精能生髓,人的生长发育直至衰老都与肾密切相关,肾精充足则五脏六腑的气血充盈。肾为先天之本,肾藏先天之精,肾可精化为肾气。哮喘属于本虚标实之证,肾气足则精血旺,五脏六腑相互协调则固痰得到化解,如此便可以终止其发作。哮喘患者常常在幼年就开始发病,小儿脏腑尚未发育完善,体质上肾阴常不足使得此病迁延难愈。现代临床研究发现,支气管哮喘人群往往也具有较高的肾损伤发生率,患者病程、发作频率及控制水平都与肾脏功能发生相关^[9]。此外老年人的哮喘常常比较难以治疗,因其肾气衰败导致身体虚弱,治疗时恢复的较慢。

中医认为,肺为气之主,主呼吸,肾为气之根,主纳气,在哮喘治疗上也积累了丰富的经验,治疗的基本原则是化饮平喘、温肺散寒、补益肺肾。很多具有补肾气功能的药物都对哮喘的治疗有一定作用,如六味地黄丸作为常用的滋阴补肾方剂,可改善患者的免疫功能,已用于哮喘的临床治疗,不仅可以缓解哮喘的症状,还可以减少甚至控制哮喘的发作^[10]。补肾益气中药黄芪可有效的抑制哮喘大鼠体内TNF α 的生成并降低NF- κ B的活性,抑制哮喘的发生^[11]。

2 肾藏精生髓与BMSCs的功能相似

中医认为,肾藏精,精能生髓,髓充则骨骼健壮。但是,肾主骨生髓的中医内涵在补肾中药治疗哮喘方面缺乏直接的实验依据。随着干细胞的特性及功能研究的不断深入,人们发现MSCs的功能与肾藏精生

髓有着很多的相似之处。“肾为先天之本,五脏阴阳之根”,肾精可以生血、化气,精与气血之间可以互化,骨髓的盈亏、各脏腑气血的盛衰皆与肾精的充盈有关;而MSCs具有强大的增殖和分化的潜力,对身体各器官的生长发育和再生修复有着重要作用^[12]。“肾藏精,精生髓,髓养骨”,骨骼和牙齿的坚固程度依赖于肾精是否充盈;现代医学研究也表明BMSCs与成骨能力密切相关,BMSCs可以干预治疗骨质疏松^[13]。肾主骨,骨生髓,造血,中医认为精血同源,精可融入血脉中为血并充养肺腑,而BMSCs确实也参与造血功能的维持。BMSCs参与造血微环境的形成,通过细胞间接触及分泌生长及黏附因子促进造血干细胞的增殖分化及迁移,在BMSCs不存在的体外培养条件下即使加入生长因子,造血干细胞也不能持续生长。

MSCs是具有自我更新和分化潜能的细胞,是调节免疫系统和控制炎症性疾病相关免疫反应的特化细胞,在组织修复中起重要作用。MSCs主要表达少量的人类白细胞抗原(HLA)和主要组织相容性复合体I类(MHC-I),而缺乏MHC-II和共刺激分子如CD80、CD86、CD40和CD40L。国际细胞疗法学会声明, MSCs仅表达少数特殊的细胞表面标志物,如CD73、CD90和CD105,而CD14、CD34、CD45、CD19、CD11b、CD79a和HLA-DR则呈现阴性^[14]。目前的研究结果显示, MSC可以抑制病理性T细胞增殖,调节自身免疫相关(Th1)/过敏性疾病相关(Th2)的平衡,还可以调节T调节细胞(Treg)、B细胞和树突状细胞^[15]。MSCs的功能异常与很多疾病的发生相关,包括糖尿病、骨关节炎、神经系统疾病、血液系统疾病及免疫性疾病。BMSCs是一种存在于骨髓中的多能细胞,是容易获得也是研究最多的MSCs,可分化为多种细胞类型,包括成骨细胞、软骨细胞、肌细胞和脂肪细胞,具有调节免疫和炎症反应的作用。研究发现,系统性红斑狼疮患者的BMSCs衰老并容易凋亡,其增殖分化及分泌功能下降^[16]。而在难以治疗的重症系统性红斑狼疮患者体内经异体移植BMSCs后,可以达到长期的比较好的临床治疗效果。

3 BMSCs干预哮喘的机制及干预手段研究

近年来的研究发现, BMSCs的迁移抑制哮喘的发生。肺由于其特殊的生理结构使其成为干细胞驻留最多的器官。研究显示,静脉注射48 h后,驻留在肺

部的 MSCs 仍然达到总量的 1/3^[17]。相比于其他类型的 MSCs, BMSCs 在改善肺功能与气道重塑方面的效果更好^[18]。既往研究发现 BMSCs 治疗可调控 Th1/Th2 平衡, 抑制 Th2 介导的过敏性气道炎症显著改善哮喘肺组织病理及炎症反应, 调节肺功能^[13-14]。不管是通过静脉还是气管给药, BMSCs 不仅抑制气道炎症, 也改善了气道重塑, 下调支气管肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞积聚和血清中过敏原特异性 IgE 水平^[15,19]。BMSCs 发挥免疫调节作用的前提是“归巢”: 即组织发生炎症损伤时, BMSCs 向受损部位迁移, 从而发挥免疫效应^[20]。BMSCs 能对哮喘发挥保护作用也是由于 BMSCs 向肺组织迁移增加所致^[19]。

近年来越来越多的研究发现 BMSCs 的功能可归因于分泌的外泌体, 帮助其完成细胞间通讯。外泌体是细胞分泌的一种膜结合囊泡, 其直径范围 30-150 nm, 是细胞之间生物活性脂质、蛋白质和核酸信息传递的重要载体, 可影响受体细胞的多种生物学功能, 包括调节细胞的增殖、凋亡、迁移以及血管生成等^[21]。外泌体具有比 BMSCs 更稳定的生物活性和更低的免疫风险, 在各种组织损伤模型中都有很好的治疗作用^[22]。有报道显示, 在支气管肺发育不良的小鼠模型中, 脐带 MSCs 的外泌体可以通过调节炎症反应减轻小鼠的肺损伤^[23]。此外 BMSCs 分泌的外泌体通过阻断肺上皮细胞 NF- κ B 通路减轻烟雾吸入性肺损伤。BMSCs 分泌的外泌体中的 miR-182-5p 和 miR-23a-3p 靶向 Ikbkb 和 Usp5 抑制 LPS 诱导的肺部损伤^[24]。MSCs 可通过分泌 TGF- β 1 等免疫负调节因子抑制上皮间充质转化, 从而减轻哮喘小鼠的气道重塑, 同时 TGF- β 1 也促使 MSCs 向哮喘模型的气道迁移^[25]。BMSCs 可以通过细胞通讯作用影响其他细胞的生长、分化和功能, 但目前没有研究证实 BMSCs 及其外泌体对肺上皮细胞功能的调节作用。

目前已经报道一些中药可以通过调节 BMSCs 的迁移来抑制哮喘的发展, 改善肺部损伤。阳和平喘颗粒是经典的平喘方剂, 方中的当归和五味子气血双补, 麻黄、白芥子、葶苈、桔梗、旋覆花化痰利肺, 而熟地和巴戟天两味药物正是具有温补肾气的功效。近年来的研究表明, 阳和平喘颗粒通过上调 miR-139-5p, 下调 Notch1/Hes1 通路, 强化 BMSCs 归巢抑制 Th2 炎症反应从而抑制哮喘^[26]。也有研究证实, 肾上腺素

可以通过促进 BMSCs 迁移保护 LPS 诱导的大鼠肺部损伤^[27]。近年来的研究发现, 很多具有补肾功能的药物可调节 BMSCs 的功能。如淫羊藿可以通过调节 BMSCs 的功能治疗骨质疏松^[28]。补骨脂是一种临床常用的补肾壮阳的中药, 研究发现其可以在体外诱导 BMSCs 分化为成骨细胞。具有强身健体补肺益肾功效的冬虫夏草中提取的虫草多糖, 可以诱导 BMSCs 分化为类肝样细胞, 从而对治疗肝硬化有一定作用。《素问·阴阳应象大论》中有记载“肾生骨髓, 髓生肝”, 刚好也与 BMSCs 往肝细胞分化的理论相符合。人参皂苷诱导 BMSCs 显著改善急性肝功能衰竭大鼠的肝功能, 其作用机制是通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路加速肝细胞再生^[29]。具有补肾气功效的黄芪, 其主要成分黄芪多糖可以促进 BMSCs 的增殖并分化成神经细胞^[30], 还可抑制炎性微环境中 BMSCs 异常改变^[31]。常用补肾方剂肾气丸、六味地黄丸、左归丸对大鼠 BMSCs 增殖也都有促进作用^[32]。但是目前关于这些补肾药物是否通过调节 BMSCs 功能缓解哮喘的发生发展则未见相关研究报道。

4 小结与展望

中医药治疗哮喘的历史悠久, 积累了比较多的临床经验, 以“发时治标, 平时治本”为基本原则, 在哮喘的缓解期通过补肾气扶正固本来控制哮喘的复发。近年来的研究发现在哮喘的发作期也存在肾虚的情况, 肾虚是哮喘患者的基本体质^[33]。因此, 补肾药物被广泛用于哮喘的治疗。中医“肾精”学说与 BMSCs 有许多内在相似性, 补肾药对于 BMSCs 的增殖分化等功能具有诱导及促进作用。BMSCs 的归巢抑制哮喘的发生发展, 但是目前关于这些药物治疗哮喘的作用机制研究主要集中在炎症因子分泌相关通路及气道结构变化相关的蛋白上, 鲜有研究证实药物通过调节 BMSCs 抑制哮喘的免疫反应及气道重塑。鉴于中医药对 BMSCs 的功能具有一定的调节作用, 而 BMSCs 的增殖迁移影响哮喘的发生发展, 认为中医药特别是补肾药物可能通过促进 BMSCs 的回巢、调节 BMSCs 的增殖分化改善肺上皮细胞功能来抑制哮喘的发生发展, 这可能是研究中医药治疗哮喘作用机制的一个新切入点, 也为从分子生物学水平解释肾气与哮喘的相互关系提供新的思路。

参考文献

- Schleich F, Bougard N, Moermans C, et al. Cytokine-targeted therapies for asthma and COPD [J]. *Eur Respir Rev*, 2023, 32(168): 0193-2022.
- 吴佳琦, 王烈, 郭磊, 等. 国医大师王烈分期治疗小儿哮喘方解析. *中华中医药杂志*, 2022, 37(10):5759-5762.
- Mohammadian M, Boskabady MH, Kashani IR, et al. Effect of bone marrow derived mesenchymal stem cells on lung pathology and inflammation in ovalbumin-induced asthma in mouse [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2016, 19(1): 55-63.
- 卞琴, 黄建华, 杨铸, 等. 三种补肾中药有效成分对皮质酮致骨质疏松大鼠骨髓间充质干细胞基因表达谱的作用 [J]. *中西医结合杂志*, 2011, 09(002): 179-185.
- 谢伟, 王彤彤, 王德平, 等. 五味子乙素调节 AMPK/mTOR 信号通路对高糖诱导骨髓间充质干细胞功能障碍和自噬的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(3): 403-408.
- Yang X, Ning K, Wang D E, et al. Progress of bone marrow mesenchymal stem cell mitochondrial transfer in organ injury repair. *Stem Cells Dev*, 2023, 32(13/14):379-386.
- Gu H, Li J, Ni Y. Sinomenine improves renal fibrosis by regulating mesenchymal stem cell-derived exosomes and affecting autophagy levels. *Environ Toxicol*, 2023, 38(10):2524-2537.
- 田栋, 席崇程, 黄俊伟, 等. 从《黄帝内经》探讨哮喘与肾的相关性. *吉林中医药*, 2021, 41(4):421-424.
- 张铁栓, 张国俊, 刘东伟, 等. 支气管哮喘与慢性肾脏病关系流行病学调查研究. *中国实用内科杂志*, 2012, 32(3):216-218.
- 李钰煜, 徐艳玲. 徐艳玲教授采用六味地黄丸加减治疗哮喘缓解期. *内蒙古中医药*, 2016, 35(3):36.
- 谢瑾玉, 董竞成, 宫兆华, 等. 补肾益气中药仙灵脾和黄芪对哮喘大鼠 TNF- α 和 NF- κ B 的影响. *中国中西医结合杂志*, 2006, 26(8): 723-727.
- Fu X, Liu G, Halim A, et al. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair. *Cells*, 2019, 8(8):784.
- Wu D, Chang X, Tian J, et al. Bone mesenchymal stem cells stimulation by magnetic nanoparticles and a static magnetic field: release of exosomal miR-1260a improves osteogenesis and angiogenesis. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1):209.
- Dominici M, le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, 8(4):315-317.
- Akkoc T. Mesenchymal stem cells in asthma. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1247:101-108.
- Sun L Y, Zhang H Y, Feng X B, et al. Abnormality of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2007, 16(2):121-128.
- Rizzo S, Padelli F, Rinaldi E, et al. 7-T MRI tracking of mesenchymal stromal cells after lung injection in a rat model. *Eur Radiol Exp*, 2020, 4(1):54.
- Abreu S C, Antunes M A, Xisto D G, et al. Bone marrow, adipose, and lung tissue-derived murine mesenchymal stromal cells release different mediators and differentially affect airway and lung parenchyma in experimental asthma. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(6): 1557-1567.
- Mohammadian M, Sadeghipour H R, Jahromi G P, et al. Simvastatin and bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMSCs) affects serum IgE and lung cytokines levels in sensitized mice. *Cytokine*, 2019, 113:83-88.
- 王坤, 朱慧志, 杨磊, 等. 抑制 Notch1/Jagged1 通路可促进大鼠骨髓间充质干细胞“归巢”并改善哮喘. *南方医科大学学报*, 2021, 41(10):1464-1472.
- Lin Z, Wu Y, Xu Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes in cancer therapy resistance: recent advances and therapeutic potential. *Mol Cancer*, 2022, 21(1):179.
- Xu B, Gan C X, Chen S S, et al. BMSC-derived exosomes alleviate smoke inhalation lung injury through blockade of the HMGB1/NF- κ B pathway. *Life Sci*, 2020, 257:118042.
- Quan Y, Wang Z, Gong L, et al. Exosome miR-371b-5p promotes proliferation of lung alveolar progenitor type II cells by using PTEN to orchestrate the PI3K/Akt signaling. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):138.
- Xiao K, He W, Guan W, et al. Mesenchymal stem cells reverse EMT process through blocking the activation of NF- κ B and Hedgehog pathways in LPS-induced acute lung injury. *Cell Death Dis*, 2020, 11(10):863.
- 戴伟丹. 间充质干细胞治疗哮喘中 TGF- β_1 的机制研究进展. *教育生物学杂志*, 2019, 7(2):117-120.
- 朱慧志, 王坤, 杨磊, 等. 阳和平喘颗粒通过上调 miR-139-5p 和下调 Notch1/Hes1 通路促进哮喘大鼠 BMSCs 归巢. *南方医科大学学报*, 2020, 40(12):1703-1711.
- Wu X, Wang Z, Qian M, et al. Adrenaline stimulates the proliferation and migration of mesenchymal stem cells towards the LPS-induced lung injury. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(8):1612-1622.
- 黄为, 董盼锋, 黄有荣, 等. 淫羊藿调控骨髓间充质干细胞分化防治骨质疏松的相关信号通路. *中国组织工程研究*, 2022, 26(30):4889-4895.
- 毛云, 张兆瑞. 人参皂苷诱导骨髓间充质干细胞对急性肝功能衰竭大鼠肝组织再生及 Wnt/ β -catenin 信号表达的影响. *中国临床药理学与治疗学*, 2019, 24(5):503-510.
- 侯阳, 李福智, 左中夫, 等. 黄芪多糖诱导大鼠骨髓间充质干细胞向神经样细胞分化. *中国老年学杂志*, 2014, 34(10):2760-2762.
- 李程豪, 任春贞, 刘永琦, 等. 黄芪多糖对 IL-6 和 TNF- α 模拟炎症微环境中 BMSCs 增殖及 TAFs 分化的影响. *中华中医药杂志*, 2018, 33(7):3039-3042.
- 危建安, 韩凌, 程志安, 等. 六味地黄丸、金匮肾气丸和健骨二仙丸对大鼠 BMSCs 向脂肪细胞分化相关基因表达的影响. *中药药理与临床*, 2012, 28(4):1-3.
- 董竞成, 张红英, 段晓虹, 等. 论支气管哮喘“发时治肺兼顾肾, 平时治肾兼顾肺”. *世界中医药*, 2013, 8(7):725-731.

Exploring the Mechanism of Chinese Medicine in Treating Asthma Based on the Function of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

HE Hongjuan¹, JI Xiaoyan¹, WANG Xiaoyu¹, CAO Lihua¹, WANG Zhenzhen¹, MIAO Mingsan²

(1. Academy of Chinese Medical Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China ;

2. Pharmacy College, Henan University of Chinese Medicine, Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu-Yao, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: According to the theory of traditional Chinese medicine, the pathogenesis of asthma is the deficiency of kidney essence. Many drugs with kidney tonic function can regulate immune response and inhibit the occurrence of asthma. The kidney is considered to be congenital origin. The kidney is the place to store essence. It is believed that the kidney governs bone and generates marrow. The filling of kidney essence is related to the sufficiency of vital energy and blood in each viscera. When the kidney is full, the marrow is solid. Its fullness is related to the rise and fall of qi and blood in all organs. There are many similarities between the theory of kidney filling and the potential of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs). The migration of BMSCs into the lung can inhibit the occurrence and development of asthma, and kidney tonic drugs can significantly regulate the proliferation, differentiation and migration of BMSCs. Therefore, the author believed that kidney tonic drugs may affect the occurrence of asthma through regulating epithelial cells by stimulating the migration of BMSCs. This study will explore the role of BMSCs function in the treatment of asthma and analyze that the therapeutic effect of Chinese medicine on asthma is related to the function of BMSCs.

Keywords: Asthma, Bone mesenchymal stem cell, Kidney essence, Chinese medicine, Mechanism

(责任编辑: 刘玥辰)