

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250714.001

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250714.1246.002>

基于Th17/Treg免疫平衡探讨艾灸对缺血性脑卒中大鼠脑肠共治机制研究

欧阳洁¹, 吴月萍¹, 宋小鸽², 储浩然³, 张闻东³, 陈亮亮³, 丁义侠³✉

(安徽中医药大学 1. 第二临床医学院; 2. 针灸经络研究所; 3. 第二附属医院, 安徽 合肥 230061)

[摘要] **目的:** 观察艾灸干预对缺血性脑卒中大鼠Th17/Treg细胞的影响, 从免疫平衡角度探讨其通过“脑肠共治”改善神经功能的作用机制。**方法:** 120只雄性SD大鼠随机分为空白组(25只)、造模组(95只)。75只大鼠中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)造模成功大鼠随机分为模型组、益生菌组和艾灸组, 每组25只。益生菌组给予金双歧灌胃, 艾灸组给予悬灸“百会”“大椎”及双侧“天枢”“足三里”穴, 每次20 min, 两组每日干预1次, 连续7 d。干预结束后, 采用Longa评分、TTC染色、H&E染色、ELISA、实时荧光定量PCR、Western blot、免疫组织化学及流式细胞术检测艾灸对MCAO大鼠的影响。**结果:** 与空白组相比, 模型组Longa评分升高($P<0.01$), 脑梗死体积增大($P<0.01$), 缺血侧脑、结肠组织形态破坏且炎性细胞浸润明显, 白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)含量减少($P<0.01$), IL-10和叉头框蛋白P3(forkhead box P3, FOXP3)mRNA、蛋白表达水平及阳性表达降低($P<0.01$), 白细胞介素-17A(interleukin-17A, IL-17A)含量增加($P<0.01$), IL-17A和维甲酸相关孤儿核受体 γ t(retinoid-related orphan nuclear receptor γ t, ROR γ t)mRNA、蛋白表达水平及阳性表达升高($P<0.01$), CD4⁺、Treg百分比降低($P<0.05$), CD8⁺、Th17百分比升高($P<0.05$)。与模型组相比, 益生菌组和艾灸组Longa评分降低($P<0.01$), 脑梗死体积缩小($P<0.01$), 缺血侧脑、结肠组织形态相对完好, 炎性细胞浸润减轻, IL-10含量增加($P<0.01$), IL-10和FOXP3 mRNA、蛋白表达水平及阳性表达升高($P<0.01$), IL-17A含量减少($P<0.01$), IL-17A和ROR γ t mRNA、蛋白表达水平及阳性表达降低($P<0.01$), CD4⁺、Treg百分比升高($P<0.05$), CD8⁺、Th17百分比降低($P<0.05$)。**结论:** 艾灸通过脑肠共治改善缺血性脑卒中后神经功能损伤, 可能与调节Th17/Treg免疫平衡, 抑制脑肠炎性反应有关。

[关键词] 艾灸; 缺血性脑卒中; 脑肠共治; Th17/Treg免疫平衡

[中图分类号] R245 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)04-0269-12

Mechanism of brain-gut co-treatment via moxibustion in rats with ischemic stroke based on Th17/Treg immune homeostasis

OUYANG Jie¹, WU Yueping¹, SONG Xiaoge², CHU Haoran³, ZHANG Wendong³, CHEN Liangliang³, DING Yixia³✉

(1. The Second Clinical Medical College of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061, China; 2. Research Institute of Acupuncture-Meridian Science, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230061, China; 3. The Second Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the Natural Science Foundation Project of Anhui Province Youth Project (2008085QH390); Anhui Provincial Department of Education College Natural Science Fund Key Project (2022AH050477); Anhui Provincial Key Research and Development Program Project of Science and Technology Benefiting the People's Republic of China Special Project (2022e07020026); The Seventh National Succession Project of Old Traditional Chinese Medicine Experts in Academic Experience [Guo Zhong Yi Yao Ren Jiao Han (2022) No.76]

[Author]: OUYANG Jie, E-mail: ouyang695@163.com.

[Correspondence to]: DING Yixia, Associate Chief Physician, Master's Supervisor, E-mail: 175810678@qq.com

Received: 2025-04-16

Revised: 2025-07-07

JHMu, 2026;32(4):269-280

[基金项目] 安徽省自然科学基金青年项目(2008085QH390);安徽省教育厅高校自然科学基金重点项目(2022AH050477);安徽省重点研究与开发计划项目科技惠民专项(2022e07020026);第七次全国老中医药专家学术经验继承项目[国中医药人教函(2022)76号]

[作者简介] 欧阳洁, E-mail: ouyang695@163.com。

[通讯作者] 丁义侠, 副主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: 175810678@qq.com。

[收稿日期] 2025-04-16 **[修回日期]** 2025-07-07 **网络出版时间:** 2025-07-14 14:32:37

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] Objective: To observe the effects of moxibustion on Th17/Treg cells in rats with ischemic stroke and to explore its mechanism of improving neurological function through the "brain-gut co-medication" from the perspective of immune homeostasis. **Methods:** A total of 120 male SD rats were randomly divided into the blank group (25 rats) and the modeling group (95 rats). Among which 75 successful middle cerebral artery occlusion (MCAO) modeled rats were randomly divided into the model group, the probiotic group, and the moxibustion group, with 25 rats in each group. In the probiotic group, gold bifidus was administered by gavage, and in the moxibustion group, moxibustion was administered at the "Baihui" and "Dazhui" points, as well as the bilateral "Tianshu" and "Zusanli" points, for 20 min each time. Both groups were intervened once a day for 7 consecutive days. At the end of the interventions, the effects of moxibustion on the MCAO rats were detected by the Longa score, TTC staining, H&E staining, ELISA, real-time fluorescence quantitative PCR, Western blot, immunohistochemistry, and flow cytometry. **Results:** Compared to the blank group, the model group exhibited higher Longa scores ($P<0.01$) and larger cerebral infarct volumes ($P<0.01$). There was pronounced morphological disruption and inflammatory cell infiltration in the ischemic brain and colon tissues. The level of interleukin-10 (IL-10) was decreased ($P<0.01$), IL-10 and forkhead box P3 (FOXP3) mRNA, protein, and positive expressions were reduced ($P<0.01$). The level of interleukin-17A (IL-17A) was increased ($P<0.01$), IL-17A and retinoid-related orphan nuclear receptor γ t (ROR γ t) mRNA, protein, and positive expressions were increased ($P<0.01$). The percentages of CD4⁺ and Treg were decreased ($P<0.05$), while those of CD8⁺ and Th17 were increased ($P<0.05$). Compared to the model group, the probiotic and moxibustion groups showed lower Longa scores ($P<0.01$) and reduced cerebral infarct volumes ($P<0.01$). Tissue morphology in the ischemic brain and colon was relatively intact, and inflammatory cell infiltration was reduced. The level of IL-10 was increased ($P<0.01$), IL-10 and FOXP3 mRNA, protein, and positive expressions were elevated ($P<0.01$). The level of IL-17A was decreased ($P<0.01$), and IL-17A and ROR γ t mRNA, protein, and positive expressions were reduced ($P<0.01$). The percentages of CD4⁺ and Treg were increased ($P<0.05$), while those of CD8⁺ and Th17 decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** Moxibustion ameliorate neurological function damage after ischemic stroke through brain-gut co-treatment, likely by regulating the Th17/Treg immune balance and inhibiting inflammatory responses in the brain-gut axis.

[Key words] Moxibustion; Ischemic stroke; Brain-gut co-treatment; Th17/Treg immune balance

当前,伴随我国人口老龄化进程加速,缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)发病率和致残率持续上升,给公共卫生体系带来压力^[1,2]。现阶段西医在应对IS时多以溶栓、抗凝以及脑保护等策略来减缓脑损伤,但存在疗效限制及依赖性问题^[3]。

中医理论认为,脑与肠存在密切的相互作用关系,通过上下协同以共同维持人体生理平衡。基于此形成“脑肠相通”理念,并衍生出“脑肠同调”“脑肠共治”等干预手段。临床观察报道,IS引发的肠道菌群失调会陷入恶性循环,紊乱菌群加重脑组织损伤,阻碍患者功能恢复与预后改善^[4,5]。针灸通过增强肠道蠕动、调节菌群及修复肠屏障以减轻炎症、改善肠道稳态,来减轻神经功能缺损,从而改善卒中结局^[6-8]。然而,其内在机制的探究目前尚显不足。

维持Th17与Treg平衡已被证实对改善缺血性卒中预后具有关键作用^[9,10]。艾灸不仅能通过调控Th17/Treg平衡增强免疫、抑制炎症以减轻脑损伤及促进神经恢复,还能调整肠道菌群代谢维护稳态,从而改善卒中预后^[11-13]。因此,艾灸“脑肠共治”的作用机制是否与调节脑肠Th17/Treg平衡,进而提高针灸改善IS的疗效有关,值得研究探讨。本课题组前期研究发现艾灸能通过脑-肠轴双向调节改

善脑卒中大鼠神经功能,其机制与调节肠道菌群及增强肠黏膜屏障功能有关^[14]。本研究聚焦于脑肠Th17/Treg免疫平衡视角,深入探究艾灸“脑肠共治”促进IS大鼠神经功能恢复的作用机制,为临床应用提供更充分的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

120只清洁级雄性SD大鼠(周龄:7~9周,体重:220~250 g),购自河南斯克贝生物科技股份有限公司,生产许可证:SCXK(豫)2020-0005。大鼠饲养于安徽中医药大学实验动物中心,环境参数:恒温(24±2)℃、相对湿度(60%±10%)、12 h光照/黑暗循环,自由取食饮水。实验前进行为期1周的适应性饲养。随后随机分配25只大鼠为空白组,其余95只用于大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型制备,将成功建立模型的大鼠随机纳入模型组、益生菌组与艾灸组。本实验经安徽中医药大学伦理委员会审查通过(编号:AHUCM-rats-2023159)。

1.2 主要试剂与仪器

主要试剂:戊巴比妥钠(SC-6017,上海上药新亚),硫酸庆大霉素注射液(兽药字041531504,山西金馥康),细艾条7 mm×120 mm(临湘市湖香艾),

双歧杆菌乳杆菌三联活菌片(金双歧国药准字 S19980004, 内蒙古双奇), 大鼠白细胞介素-17A(interleukin-17A, IL-17A)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10) ELISA 试剂盒(JYM0480Ra、JYM0651Ra, 武汉基因美), 实时定量荧光 PCR 引物(上海 Sangon Biotech 公司), 山羊抗小鼠 IgG、山羊抗兔 IgG(236000213、234750414, Zsbio 公司), 维甲酸相关孤儿核受体 γ t (retinoid-related orphan nuclear receptor γ t, ROR γ t) 抗体、IL-17A 抗体、IL-10 抗体、叉头框蛋白 P3(forkhead box P3, FOXP3) 抗体(bs-10647R、bs-2140R、bs-0698R、bs-10211R, 北京 Bioss 公司), 小鼠抗大鼠 GAPDH 抗体(TA-08, 北京中杉金桥), 兔抗大鼠 FOXP3、兔抗大鼠 ROR γ t、兔抗大鼠 IL-17A、兔抗大鼠 IL-10 (bs-10211R、bs-23110R、bs-2140R、bs-0698R, 北京 Bioss 公司), 二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB) 显色试剂盒(B011, 安徽 ebiogo 公司), CD4-FITC、CD8-APC、CD25-APC(201505、200610、202113, 美国 BioLegend 公司), PE Anti-Mo/Rt IL-17A、PE Anti-Mo/Rt FOXP3 (12-7177-81、12-5773-80, 美国 Invitrogen 公司)。

主要仪器: 酶标仪(RT-6100, 深圳雷杜), 高速台式冷冻离心机(JW3021HR, 安徽嘉文), 电泳仪、转膜仪(EPS300、VE-186, 上海天能), 荧光定量 PCR 仪(PIKOREAL96, 美国 Thermo 公司), ImageJ 图像分析软件(美国 NIH), 切片机(RM2016, 德国 Leica 公司), 正置电子显微镜(NIKON Ci-S, 日本 Nikon), 数字切片扫描仪(Pannoramic MIDI, 匈牙利 3DHISTECH 公司), 流式细胞仪(CytoFLEX, 美国贝克曼库尔特公司)。

1.3 模型制备

参照文献[15]的方法制备 MCAO 模型, 术前禁食不禁水 12 h, 大鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥钠(30 mg/kg) 实施麻醉, 将其仰卧位固定后, 常规备皮并进行术区消毒, 于颈部正中作纵行切口, 钝性分离右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA) 以及颈外动脉(external carotid artery, ECA), 将 CCA 近心端和近分叉的 ECA 予以结扎, 于 CCA 临近分叉处预置 1 根缝合线打活结备用, 用动脉夹夹闭 ICA 远端, 在距离 CCA 分叉约 1 cm 处, 使用眼科剪做一“V”形切口, 将制备完成的线栓自该切口插入, 沿 CCA 方向送入 ICA 内, 遇轻微阻力即止, 栓线插入深度控制在 18~20 mm。然后于血管分叉处进行结扎操作, 松开动脉夹, 随后检查该区域是否仍有活动性出血,

待排除后方继续, 予以局部喷洒硫酸庆大霉素注射液(0.2 mL/100 g) 抗感染, 缝合皮肤, 单笼饲养。本研究共纳入 95 只大鼠用于模型建立。建模过程中, 共计 20 只大鼠死亡, 其中 6 只因 Longa 神经功能缺损评分达到 4 分而被排除。在后续观察中有 14 只大鼠死亡, 最终筛选留存符合标准的大鼠 75 只。将模型构建成功的大鼠随机分为模型组、益生菌组及艾灸组, 每组 25 只。

造模成功的评判标准^[15]: 待大鼠自然苏醒后, 采用 Longa 等的 5 分制评分对所有大鼠进行神经功能缺损评定, 评分在 1~3 分为造模成功, 纳入实验。

1.4 干预方法

艾灸组: 于造模成功后当日开始予以艾灸干预。取穴: “百会”“大椎”, 双侧“天枢”“足三里”, 定位参照文献[16, 17]的方法。操作: 将大鼠俯卧位固定于自制的艾灸架上, 以其不挣扎为度, 充分暴露穴位, 将直径 7 mm、长 120 mm 艾条点燃, 在距离穴位皮肤 2~3 cm 处施以温和灸, 施灸时根据大鼠躲避的动作来调整距离, 每次 20 min, 每日 1 次, 持续 7 d。

益生菌组: 造模成功后当日, 予以 200 mg/kg 金双歧溶液(双歧杆菌乳杆菌三联活菌片溶解于 0.9% 氯化钠溶液) 灌胃^[18], 每天 1 次, 持续 7 d。

模型组和空白组不给予治疗性干预, 只做与艾灸组、益生菌组相同的抓取和固定。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 神经行为学评估 分别于造模结束后当日和干预结束后当日观察大鼠神经功能缺损评分。0 分: 提起鼠尾, 双上肢可伸展, 无明显神经缺损症状; 1 分: 不能完全伸展对侧前爪; 2 分: 提起鼠尾, 对侧前肢内旋, 行走时向对侧转圈; 3 分: 行走时向对侧倾倒; 4 分: 不能自发行走, 意识丧失; 5 分: 死亡。分数越高, 神经损伤越严重^[15]。

1.5.2 TTC 染色检测大鼠相对脑梗死体积 每组随机选取 4 只大鼠, 麻醉处死后快速取脑, 剔除嗅球等, 置于 -20 °C 冰箱冷冻。将冷冻的鼠脑切成 5 个厚度约 2 mm 的冠状切片, 置于 2% TTC 溶液中, 染色 30 min, 染色完毕后通过 ImageJ 图像分析软件计算相对脑梗死体积。脑梗死体积(%)=(脑切片白色缺血区域体积÷脑切片总体积)×100%。

1.5.3 苏木精-伊红(H&E)染色观察大鼠缺血侧脑组织、结肠组织病理形态 每组随机选取 3 只大鼠制作成石蜡切片进行标准步骤处理: 依次脱蜡复水、H&E 染色、脱水、透明化处理、中性树胶封片, 于

显微镜下观察大鼠切片组织的病理形态。

1.5.4 ELISA 检测大鼠 IL-10、IL-17A 的含量 每组随机选取 8 只大鼠分离血清置于-80℃冰箱中保存,同时取脾脏、结肠及缺血侧脑组织,加入 PBS 匀浆,离心 20 min(2 000~3 000 r/min),收集上清,按照 ELISA 试剂盒使用说明,检测各组织及血清中 IL-17A、IL-10 的含量。

1.5.5 Western blot 检测 IL-10、IL-17A、FOXP3、ROR γ t 相关蛋白的表达 每组随机选取 6 只大鼠,取脾脏、结肠及缺血侧脑组织,将组织裂解、离心取上清液,进行蛋白定量,制胶、上样、电泳、转膜,加入一抗 IL-10(1:1 000)、IL-17A(1:1 000)、FOXP3(1:1 000)、ROR γ t(1:1 000)过夜,加入二抗(1:20 000),

室温孵育 1.2 h,PBS-T 漂洗 3 遍。使用 ECL 化学发光试剂进行化学发光、显影及定影,ImageJ 图像处理软件分析灰度值,以 GAPDH 为内参计算目标蛋白相对表达量。

1.5.6 实时荧光定量 PCR 测定 IL-10、IL-17A、FOXP3、ROR γ t mRNA 表达水平 每组随机选取 6 只大鼠,分别取缺血侧脑、脾脏及结肠组织,依次经过总 RNA 提取、反转录反应与荧光定量 PCR 反应。反应体系:实时荧光定量 PCR 混合液 2×5 μ L,基因引物 1 μ L,cDNA 1 μ L。扩增条件:95℃,然后按照 95℃ 20 s、60℃ 1 min 循环。选用 β -actin 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对目的基因相对表达水平进行定量分析,引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Tab 1 Primer sequence

基因	上游引物 (5'→3')	下游引物 (5'→3')	扩增长度 (bp)
β -actin	CCCATCTATGAGGGTTACGC	TTTAATGTCACGCACGATTTC	150
IL-10	GTCATCGATTTCTCCCCTGT	TTTGAGTGTACGCTAGGCTT	149
IL-17A	ATTCCATCCATGTGCCTGAT	GAGCTAAGGGAGTTGAGGAC	161
ROR γ t	CAGAGACACCACCGAACAT	TGCAAGGGATCACTTCGATT	79
FOXP3	GCTTTCTGCGTATGTCCTTC	TTAACCTTAGTGCCTGATGTG	148

1.5.7 免疫组织化学观察 IL-10、IL-17A、FOXP3、ROR γ t 阳性表达 每组随机选取 3 只大鼠,取缺血侧脑、结肠和脾脏组织石蜡切片,依次经过二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水、柠檬酸钠修复、细胞通透 15 min,3% H₂O 室温孵育,PBS-T 冲洗后加入 FOXP3/IL-17/IL-10/ROR γ t 一抗过夜,二抗(37℃,30 min),PBS 洗涤 3 次,DAB 显色、苏木素复染 2~5 min、返蓝 30 s、树胶封片。每只大鼠随机选取 2~3 张切片,每张切片随机取 3~4 个视野,运用图像分析软件检测各视野阳性表达。

1.5.8 流式细胞术检测 CD4⁺、CD8⁺、Th17、Treg 百分比及 CD4⁺/CD8⁺、Th17/Treg 比值 每组随机选取 4 只大鼠,取各组大鼠腹主动脉血、缺血侧脑和脾脏组织,离心收集不同分组的组织细胞,用 PBS 洗涤后弃上清,并重悬细胞,调整细胞浓度,在 100 μ L 细胞液中加入 5 μ L CD3、5 μ L CD4、5 μ L CD8,避光孵育 15 min,检测 Th17 细胞加入固定剂和破膜剂后加入适量 IL-17A,检测 Treg 细胞加入破核后,加入适量的 FOXP3,PBXS 洗涤后重悬细胞,采用流式细胞仪检测 CD4⁺、CD8⁺、Th17、Treg 百分比及 CD4⁺/CD8⁺、Th17/Treg 比值。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 26.0 软件处理统计结果,GraphPad

Prism 9.5 软件负责绘制图表。服从正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。满足方差齐性假设的情况下,多组间总体比较采用单因素方差分析,组间两两对比使用 LSD 检验;若方差不齐,则改用 Tamhane's T2 检验。针对非正态分布数据,组间比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

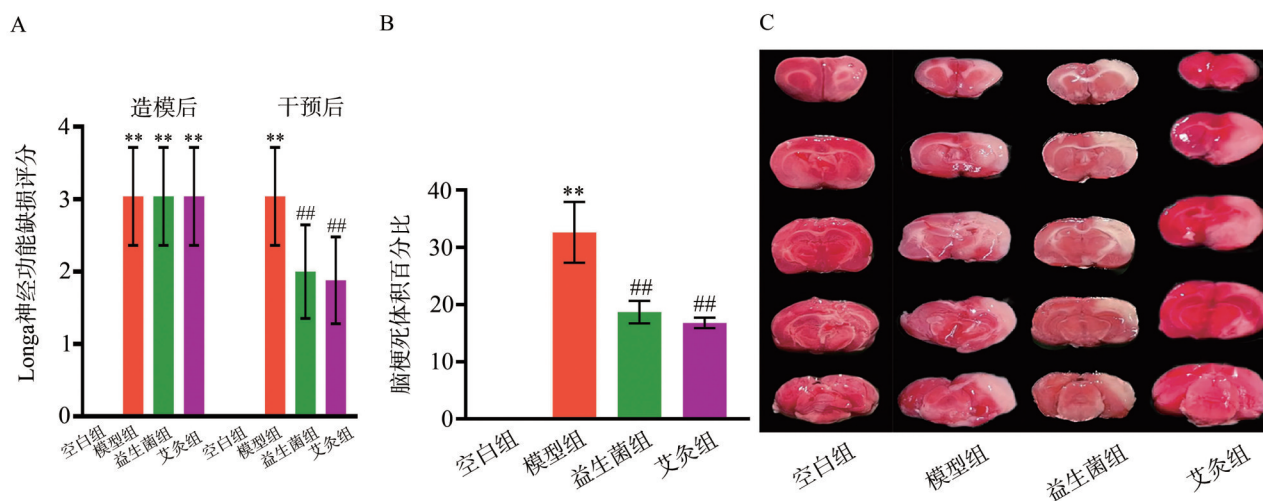
2 结果

2.1 各组大鼠 Longa 神经功能缺损评分和脑梗死体积百分比

造模结束后当日,模型组、益生菌组及艾灸组 Longa 神经功能缺损评分高于空白组($P < 0.01$),且在 1~3 分范围内,提示造模成功。干预结束后当日,与模型组相比,益生菌组、艾灸组大鼠 Longa 神经功能缺损评分降低($P < 0.01$),见图 1A。与空白组相比,模型组大鼠脑梗死体积明显增大($P < 0.01$);与模型组相比,益生菌组、艾灸组脑大鼠梗死体积明显缩小($P < 0.01$),见图 1B、C。

2.2 各组大鼠缺血侧脑组织、结肠组织 H&E 染色结果

空白组大鼠脑组织细胞排列紧密规则,体积与形态相近且结构饱满。模型组缺血侧脑组织中细胞发生皱缩,可见核固缩碎裂现象,并出现空泡样



A: Longa 神经功能缺损评分; B: 脑梗死体积百分比; C: TTC 染色结果; 与空白组相比, ** $P<0.01$; 与模型组相比, ## $P<0.01$

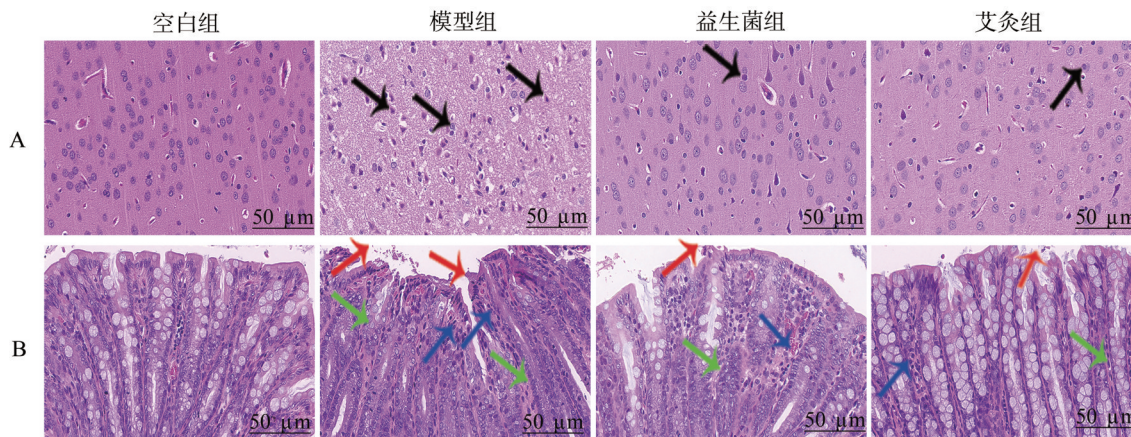
图1 各组大鼠干预前、后行为学评分和脑梗死体积百分比

Fig 1 Behavioural scores and percentage of cerebral infarct volume between pre- and post-intervention rats in each group

变性。益生菌组与艾灸组细胞形态均匀,结构相对完整,细胞间隙水肿明显减退,可观察到数量增多的形态正常细胞,其组织病理损伤程度轻于模型组,见图2A。

空白组大鼠结肠黏膜形态完好,腺体规则有序分布,隐窝结构正常,无明显炎性细胞浸润。模型

组大鼠结肠黏膜形态破损,腺体排列紊乱,隐窝出现萎缩,炎性细胞浸润明显。相较于模型组,益生菌组、艾灸组大鼠结肠黏膜形态相对完整,腺体排列整齐有序,隐窝结构基本规整,炎性细胞浸润减少,见图2B。



A: 缺血侧脑组织; B: 结肠组织; 黑色箭头指示神经元细胞核固缩、坏死, 红色箭头指示肠黏膜形态破坏, 蓝色箭头指示炎性细胞浸润, 绿色箭头指示腺体排列紊乱

图2 各组大鼠缺血侧脑组织、结肠组织 H&E 染色结果 ($\times 400$, 比例尺=50 μm)

Fig2 H&E staining results of brain tissue and colon tissue on the ischemic side of rats in each group ($\times 400$, scale bar=50 μm)

2.3 各组大鼠 IL-10、IL-17A 含量

与空白组相比,模型组大鼠在缺血侧脑、结肠和脾脏组织及血清中 IL-10 含量减少($P<0.01$), IL-17A 含量增加($P<0.01$)。与模型组相比,益生

菌组和艾灸组缺血侧脑、结肠和脾脏组织及血清中的 IL-10 含量增加($P<0.01$), IL-17A 含量减少($P<0.01$)。与益生菌组相比,艾灸组在缺血侧脑组织中 IL-17A 含量减少($P<0.05$),见图3。

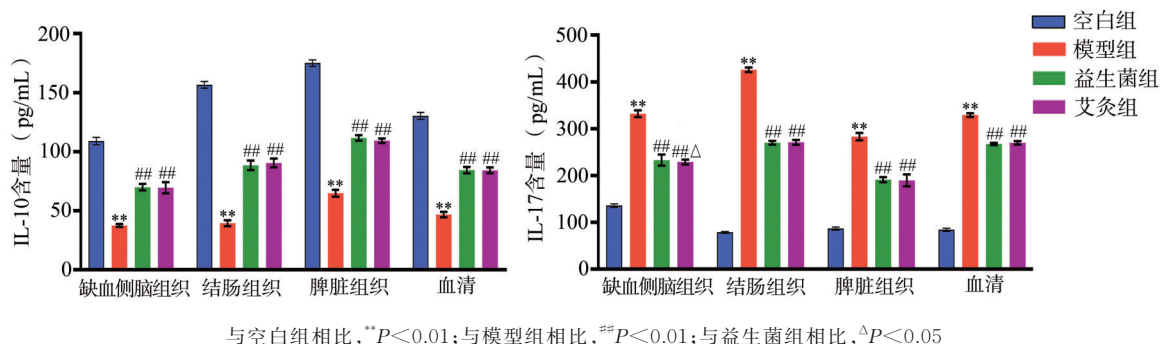


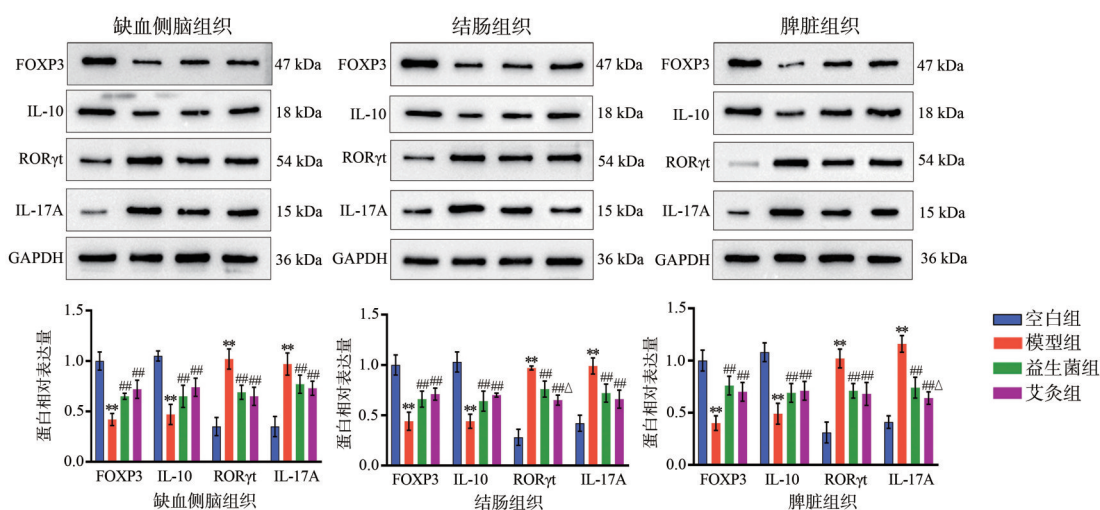
图3 各组大鼠IL-10、IL-17A的含量

Fig 3 Levels of IL-10 and IL-17A of rats in each group

2.4 各组大鼠IL-10、IL-17A、FOXP3、ROR γ t相关蛋白表达水平

与空白组相比,模型组大鼠在缺血侧脑、结肠和脾脏组织中IL-17A、ROR γ t蛋白表达升高($P < 0.01$),IL-10、FOXP3蛋白表达降低($P < 0.01$)。与

模型组相比,益生菌组和艾灸组大鼠IL-17A、ROR γ t蛋白表达降低($P < 0.01$),IL-10、FOXP3蛋白表达升高($P < 0.01$)。与益生菌组相比,艾灸组在结肠组织中ROR γ t蛋白表达降低($P < 0.05$),在脾脏组织中IL-17A蛋白表达降低($P < 0.05$),见图4。

图4 各组大鼠IL-10、IL-17A、FOXP3、ROR γ t相关蛋白表达水平Fig 4 Expression levels of IL-10, IL-17A, FOXP3, and ROR γ t-related proteins of rats in each group

2.5 各组大鼠IL-10、IL-17A、FOXP3、ROR γ t mRNA表达水平

与空白组相比,模型组大鼠在缺血侧脑、结肠和脾脏组织中IL-17A、ROR γ t mRNA表达升高($P < 0.01$),IL-10、FOXP3 mRNA表达降低($P < 0.01$)。与模型组相比,益生菌组和艾灸组大鼠的IL-17A、ROR γ t mRNA表达降低($P < 0.01$),IL-10、FOXP3 mRNA表达升高($P < 0.01$),见图5。

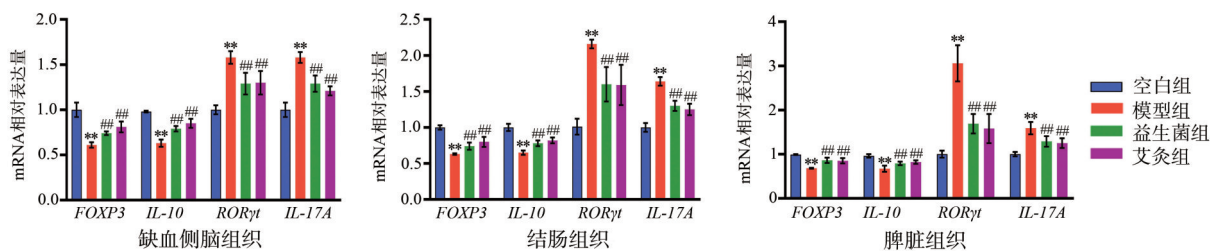
2.6 各组大鼠IL-10、IL-17A、FOXP3、ROR γ t阳性表达水平

与空白组相比,模型组大鼠缺血侧脑、结肠和

脾脏组织中IL-17A、ROR γ t阳性表达升高($P < 0.01$),IL-10、FOXP3阳性表达降低($P < 0.01$);与模型组相比,益生菌组和艾灸组IL-17A、ROR γ t阳性表达降低($P < 0.01$),IL-10、FOXP3阳性表达升高($P < 0.01$)。与益生菌组相比,艾灸组脾脏组织中ROR γ t阳性表达降低($P < 0.05$),见图6。

2.7 各组大鼠CD4⁺、CD8⁺、Th17、Treg百分比及CD4⁺/CD8⁺、Th17/Treg比值

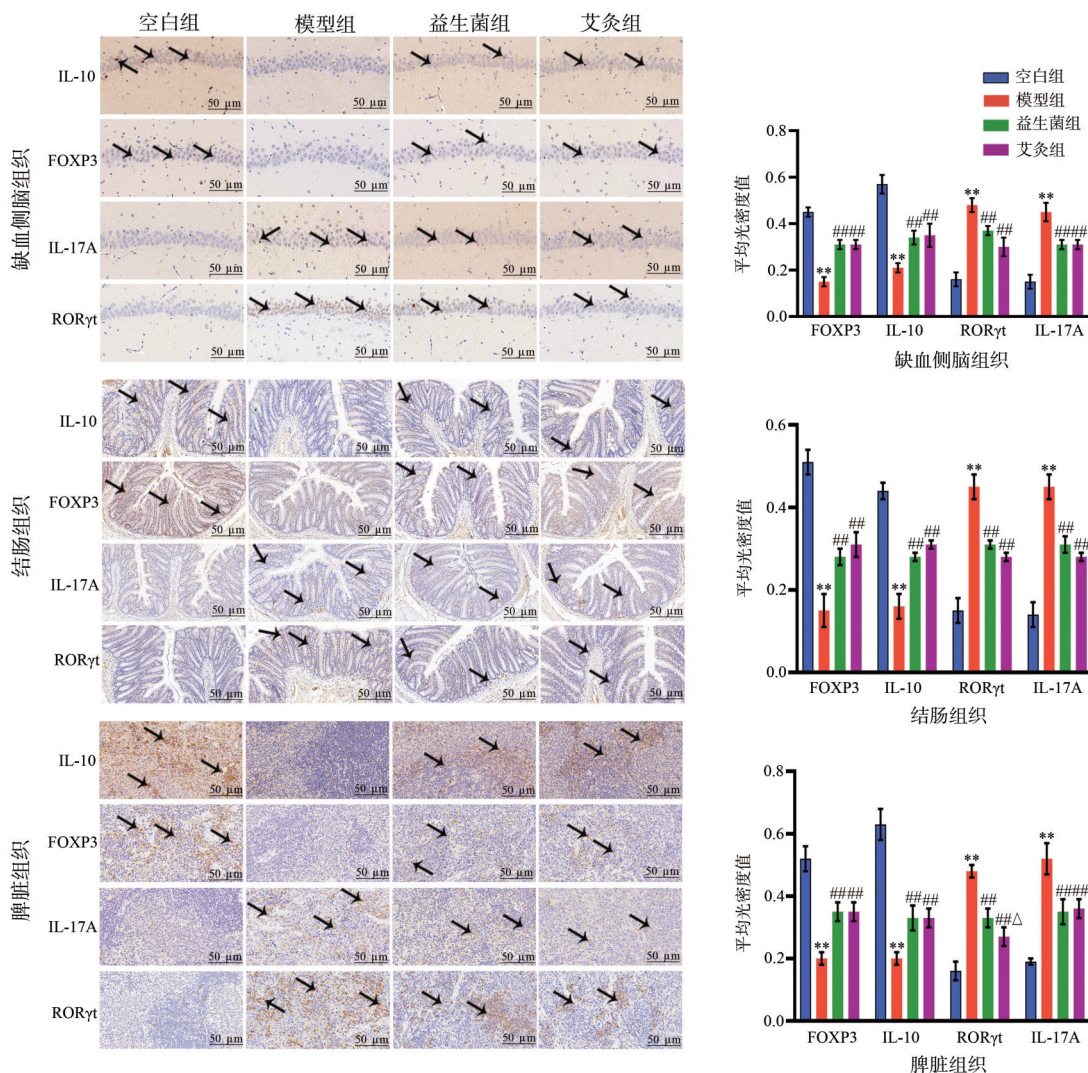
采用流式细胞仪检测缺血侧脑、结肠和脾脏组织及血清中CD4⁺、CD8⁺、Th17、Treg百分比,结果显示,结肠组织因表达水平低未能检出,而缺血侧



与空白组相比, ** $P<0.01$;与模型组相比, ## $P<0.01$

图5 各组大鼠 *IL-10*、*IL-17A*、*FOXP3*、*RORγt* mRNA 表达水平

Fig 5 Expression levels of *IL-10*, *IL-17A*, *FOXP3*, and *RORγt* mRNA of rats in each groupn



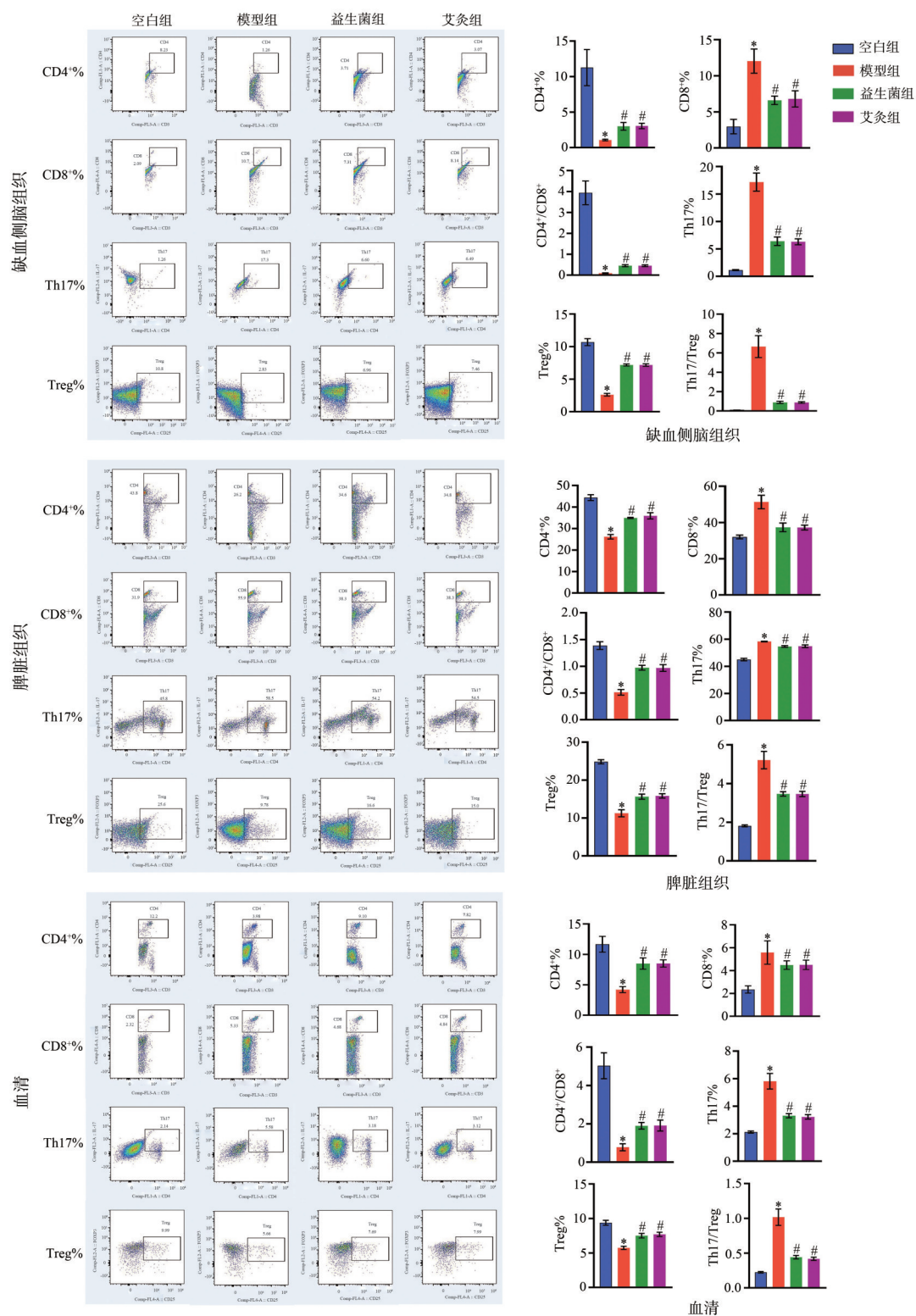
免疫组织化学, 箭头指示阳性表达;与空白组相比, ** $P<0.01$;与模型组相比, ## $P<0.01$;与益生菌组相比, Δ $P<0.05$

图6 各组大鼠 *IL-10*、*IL-17A*、*FOXP3*、*RORγt* 阳性表达水平 (免疫组化, $\times 400$, 比例尺=50 μm)

Fig 6 Positive expression levels of *IL-10*, *IL-17A*, *FOXP3*, and *RORγt* of rats in each group (immunohistochemistry, $\times 400$, scale bar=50 μm)

脑、脾脏组织及血清中的细胞百分比呈明显表达。结果表明,与空白组相比,模型组大鼠缺血侧脑、脾脏组织和血清中 CD4^+ 、Treg 百分比、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 比值降低 ($P<0.05$), CD8^+ 、Th17 百分比、Th17/Treg

比值升高 ($P<0.05$);与模型组相比,益生菌组和艾灸组 CD4^+ 、Treg 百分比、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 比值升高 ($P<0.05$), CD8^+ 、Th17 百分比、Th17/Treg 比值降低 ($P<0.05$), 见图 7。



与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,* $P<0.05$

图7 各组大鼠CD4⁺、CD8⁺、Th17、Treg百分比及CD4⁺/CD8⁺、Th17/Treg比值

Fig 7 Percentages of CD4⁺, CD8⁺, Th17, and Treg and ratios of CD4⁺/CD8⁺ and Th17/Treg of rats in each group

3 讨论

IS属于中医“中风”病范畴,其病位在脑,因脏腑阴阳失调、气血逆乱上扰清窍,导致脑脉痹阻、神

机失用^[19]。百会、大椎穴为督脉要穴,天枢、足三里穴为足阳明胃经穴,四穴合用,起到开窍醒脑、健脾调肠、祛邪扶正的作用^[20-22]。古籍中虽并未直接提

出脑肠轴概念,但经络作为连接各个器官的通道,起到贯通上下、维系平衡的作用,《灵枢·动输》曰:“胃气上注于肺……循眼系,入络脑”,而大肠手阳明之脉循行“至目内眦,斜络于颧”,胃足阳明之脉循行则“至额颅”,皆提示脑与胃肠密切相关^[23]。中医学认为,艾灸具有温通经脉、调和脑肠、平衡气血的作用,在中风的治疗中发挥重要价值^[24]。动物实验显示,艾灸通过抑制神经元凋亡与促炎因子释放,能明显缓解脑缺血模型大鼠的神经功能障碍^[25,26]。临床研究证实,艾灸治疗能有效改善患者神经功能障碍,增强日常生活自理能力,并通过改善脑血流灌注状态、减轻脑血管病理损伤,实现对脑部神经元的保护性干预,在脑卒中康复中具有明确临床效益^[27,28]。上述研究表明艾灸是治疗脑卒中的有效方法。本实验结果也证实,艾灸通过调控 Th17/Treg 免疫平衡以维护肠道稳态,减轻炎症反应,有效缓解脑卒中大鼠的神经功能损伤。

本研究结果显示,MCAO 大鼠神经功能缺损评分升高、脑梗死体积增大,脑组织细胞皱缩、结构破碎,肠组织腺体排列紊乱、炎性细胞浸润,提示大鼠脑缺血后,脑和肠组织出现不同程度的炎症反应。益生菌和艾灸干预后,MCAO 大鼠神经功能缺损评分降低、脑梗死体积缩小,脑组织细胞大小均匀、结构完整,肠组织腺体排列有序、炎性细胞浸润减少,提示益生菌和艾灸干预有改善肠道炎症反应、减少神经炎性损伤和脑组织损伤的作用。

卒中后,失衡的肠道菌群激活了促炎性 T 细胞,介导 IL-17A 促炎因子过度生成,破坏血脑屏障(blood-brain barrier, BBB),加剧中枢神经系统炎性损伤。而 IL-10 具有免疫调节和神经保护作用,能减轻肠道炎症反应和脑损伤^[29,30]。本研究发现 MCAO 大鼠缺血侧脑、结肠和脾脏组织及血清中 IL-10 含量减少,IL-17A 含量增加,提示 MCAO 大鼠促炎细胞因子增加,肠道炎症反应激活并促使产生 IL-17A 的 Th17 细胞迁移至中枢神经系统,形成肠脑轴免疫连接,加重中风炎症损伤,该结果与既往研究结果一致^[29,31,32]。艾灸干预后 MCAO 大鼠缺血侧脑、结肠和脾脏组织及血清中 IL-10 含量增加,IL-17A 含量减少,提示艾灸干预后能调节肠道菌群,抑制炎症反应,从而改善神经功能。

ROR γ t 是 Th17 细胞分化的核心因子,增强 IL-17A 表达,对炎症和免疫疾病至关重要。FOXP3 作为 Treg 细胞的关键转录因子,抑制炎症反应。FOXP3 和 ROR γ t 是细胞分化为 IL-10 和 IL-17A 分泌的关键因子,二者相互制约,共同维持

Th17 与 Treg 细胞的平衡^[33,34]。本研究发现 MCAO 大鼠缺血侧脑、结肠和脾脏组织 ROR γ t 表达升高,FOXP3 表达降低,提示肠道免疫状态发生改变,引发炎症反应。艾灸干预后 MCAO 大鼠 ROR γ t 表达降低,FOXP3 表达升高,提示益生菌和艾灸能下调 ROR γ t 的表达。结合有关报道分析^[35-37],艾灸干预能减轻肠道的免疫炎症反应,改善机体免疫功能,对中枢神经系统产生积极调节效应。

Th17 细胞在中枢神经系统中的分布与功能是近年来免疫学和神经科学交叉研究的热点,脑缺血导致 Th17 可在脑组织中明显浸润,Th17 分泌促炎因子和直接细胞毒性作用驱动神经炎症。Treg 扩增可减少神经元死亡,改善神经功能恢复。脑组织中 Th17/Treg 失衡导致神经炎症^[38-40]。CD4⁺辅助性 T 细胞和 CD8⁺细胞毒性能调节脑损伤后淋巴细胞驱动的免疫反应及神经炎症反应^[41]。本研究发现 MCAO 大鼠缺血侧脑、脾脏组织和血清中 Th17/Treg 比值升高,CD4⁺/CD8⁺比值降低,提示脑缺血后机体免疫系统失衡,可加重脑损伤,影响神经功能恢复。艾灸干预后 MCAO 大鼠 Th17/Treg 比值降低,CD4⁺/CD8⁺比值升高,这对调节免疫反应减轻脑损伤具有积极作用。

有研究表明^[42],Th17 和 Treg 细胞之间的平衡在调节缺血性中风的免疫反应和抑制炎症方面至关重要。Th17 细胞在病理状态下可主动穿透 BBB 并加剧神经炎症,而 Treg 细胞在病理状态下可通过 BBB 通透性改变和趋化因子引导穿透 BBB,其功能兼具免疫抑制与组织修复双重作用。脑缺血发生后,BBB 受损,中风诱导的免疫抑制随后感染导致外周免疫细胞浸润到受损的大脑中,外周 Th17 和 Treg 细胞可经过体循环穿过 BBB 进入脑组织,通过脑肠轴调节 Th17/Treg 免疫平衡^[43,44]。Th17/Treg 失衡会破坏肠道稳态并加剧脑损伤,缺血性脑损伤引发的全身炎症反应,通过脑肠轴影响免疫系统,进一步诱发炎症反应,加剧肠道菌群失调和中枢神经炎症,而调节这一平衡有助于减轻 IS 的神经炎症损伤并改善神经功能。结合有关研究分析^[41,45],艾灸脑肠共治起到抑制脑、肠的炎症,调节免疫反应,进而起到减轻脑损伤的作用。

脑肠轴作为神经系统疾病发生、发展的重要调控枢纽,通过神经-免疫-内分泌途径介导大脑与肠道的双向调控,在维持肠道屏障功能、调节免疫稳态及促进神经修复等方面具有关键作用^[46,47]。研究表明,益生菌可抑制促炎因子释放,上调抗炎因子表达,重塑肠道免疫平衡,并且通过脑肠轴进行双

向通讯,减轻中枢神经炎症反应,从而促进IS后神经功能恢复^[48,49]。基于此,本研究选择益生菌作为阳性对照药物,艾灸组各项观察指标结果与益生菌组变化趋势一致,组间比较差异无统计学意义,进一步提示艾灸可通过改善MCAO大鼠的肠道炎症反应减少神经炎症性损伤,其作用机制与中医“脑肠共治”理论具有内在一致性。

综上所述,艾灸基于“脑肠共治”理论能减轻机体免疫炎症反应,维持肠道稳态,调节Th17/Treg免疫平衡,形成脑肠协同效应,有利于改善IS大鼠神经功能损伤程度,为“脑肠共治”的中医特色疗法的临床应用提供了理论依据,凸显了艾灸“双向调节、整体干预”的治疗优势,但脑肠共治作用机制复杂,仍需要进一步深入研究。

作者贡献度说明:

欧阳洁:实验实施、数据分析、文章撰写;吴月萍:实验实施;储浩然、张闻东:提出研究思路;陈亮亮:实验技术指导及文稿审校;宋小鸽、丁义侠:设计研究方案。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- Ma Y, Wang X, Li Y, et al. Mechanisms associated with mitophagy and ferroptosis in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *J Integr Neurosci*, 2025, 24(3): 26458.
- Gasull T, Arboix A. Molecular mechanisms and pathophysiology of acute stroke: Emphasis on biomarkers in the different stroke subtypes[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(16): 9476.
- 李光硕, 赵性泉. 《中国急性缺血性卒中诊治指南2023》解读[J]. *中国卒中杂志*, 2024, 19(8): 956-961.
Li GS, Zhao XQ. Interpretation of the Chinese Guidelines for Diagnosis and Treatment of Acute Ischemic Stroke 2023[J]. *Chin J Stroke*, 2024, 19(8): 956-961.
- 王义翠, 林华忠, 刘延鑫, 等. 肠道菌群调节与中医药治疗脑卒中关系的研究进展[J]. *中国微生态学杂志*, 2023, 35(9): 1112-1116, F0003.
Wang YC, Lin HZ, Liu YX, et al. Traditional Chinese medicine in the treatment of stroke based on regulating intestinal flora: Research progress [J]. *Chin J Microecol*, 2023, 35(9): 1112-1116, F0003.
- 徐开宇, 刘玲, 尹恕, 等. 脑-肠轴在缺血性脑卒中及其并发症中的机制探索与应用展望[J]. *中国科学: 生命科学*, 2023, 53(5): 594-604.
Xu KY, Liu L, Yin J, et al. The mechanism and application prospects of the brain-gut axis in ischemic stroke and its complications[J]. *Sci Sin (Vita)*, 2023, 53(5): 594-604.
- 董琦, 田小刚, 黄继升, 等. 脑肠同调论针刺治疗急性脑梗死血清代谢组学研究[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(6): 165-168.
Dong Q, Tian XG, Huang JS, et al. Metabolomics study on acupuncture treatment of acute cerebral infarction based on theory of brain gut homology [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2024, 42(6): 165-168.
- 江娅芬, 潘进花, 吴江霞, 等. 基于脑肠轴理论观察针刺治疗卒中后抑郁的临床疗效[J]. *上海针灸杂志*, 2024, 43(10): 1105-1111.
Jiang YF, Pan JH, Wu JX, et al. Clinical efficacy of acupuncture in treating post-stroke depression based on the brain-gut axis theory [J]. *Shanghai J Acupunct Moxibust*, 2024, 43(10): 1105-1111.
- 蒋志明, 刘磊, 张辽, 等. “脑肠同调”法针刺对缺血性脑卒中患者运动功能及肠道菌群的影响[J]. *中国针灸*, 2024, 44(7): 740-748.
Jiang ZM, Liu L, Zhang L, et al. Effects of "brain-gut coherence" method of acupuncture on motor function and intestinal microflora in the patients with cerebral ischemic stroke [J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2024, 44(7): 740-748.
- Wang J, Zhang H, He J. The role of the gut microbiota in the development of ischemic stroke[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 845243.
- Wang X, Zhou Y, Tang D, et al. ACC1 (acetyl coenzyme a carboxylase 1) is a potential immune modulatory target of cerebral ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2019, 50(7): 1869-1878.
- Kuang H, Zhu X, Chen H, et al. The immunomodulatory mechanism of acupuncture treatment for ischemic stroke: Research progress, prospects, and future direction[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1319863.
- Zhao C, Li X, Li Z, et al. Moxibustion regulates T-regulatory/T-helper 17 cell balance by modulating the microRNA-221/suppressor of cytokine signaling 3 axis in a mouse model of rheumatoid arthritis [J]. *J Integr Med*, 2022, 20(5): 453-462.
- Bao C, Wang C, Li G, et al. Effect of mild moxibustion on intestinal microbiota and NLRP6 inflammasome signaling in rats with post-inflammatory irritable bowel syndrome [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(32): 4696-4714.
- Ding Y, Chen L, Li K, et al. Assessing the impact of moxibustion on colonic mucosal integrity and gut microbiota in a rat model of cerebral ischemic stroke: Insights from the "brain-gut axis" theory[J]. *Front Neurol*, 2025, 16: 1450868.

- 15 Deng Y, Tan R, Li F, et al. Isorhynchophylline ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting CX3CR1-mediated microglial activation and neuroinflammation[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 574793.
- 16 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.
China Association for Acupuncture and Moxibustion. Names and localisation of commonly used acupoints in experimental animals part 2: The rat[J]. *Acupunct Res*, 2021, 46(4): 351-352.
- 17 申学婷, 张双双, 陈小燕, 等. 基于 AMPK 探究电针“天枢”结合二甲双胍对 2 型糖尿病大鼠的降糖效应[J]. 中国针灸, 2023, 43(1): 53-59.
Shen XT, Zhang SS, Chen XY, et al. Hypoglycemic effect of electroacupuncture at "Tianshu" (ST 25) combined with metformin on rats with type 2 diabetes mellitus based on AMPK[J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2023, 43(1): 53-59.
- 18 Li BR, Shao SY, Yuan L, et al. Effects of mild moxibustion on intestinal microbiome and NLRP3 inflammation in rats with 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis[J]. *J Integr Med*, 2021, 19(2): 144-157.
- 19 吴勉华, 石岩. 中医内科学 (新世纪第 5 版)[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2021.
Wu MH, Shi Y. Internal medicine of traditional Chinese medicine (New Century, 5th Edition) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- 20 唐红, 汪红娟, 江姗姗, 等. 针刺“百会”“水沟”“大椎”穴对脑缺血再灌注损伤模型大鼠海马区差异 circRNAs 表达的影响[J]. 中医杂志, 2023, 64(5): 512-517.
Tang H, Wang HJ, Jiang SS, et al. Effect of needling at "Baihui" (GV 20), "Shuigou" (GV 26) and "Dazhui" (GV 14) on differential circRNAs expression in the hippocampus cerebral ischemia reperfusion injury model rats[J]. *J Tradit Chin Med*, 2023, 64(5): 512-517.
- 21 宋雪梅, 秦合伟, 李彦杰, 等. 基于 miR-381 调控 SDF-1/CXCR4 信号通路探讨电针对缺血性脑卒中后神经损伤修复的影响[J]. 中国针灸, 2024, 44(2): 175-181.
Song XM, Qin HW, Li YJ, et al. Effects of electroacupuncture on repairing neurological damage following ischemic stroke based on miR-381-mediated SDF-1/CXCR4 signaling pathway [J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2024, 44(2): 175-181.
- 22 杨悦悦, 吴松, 马素娜, 等. 基于 HIF/VEGF/Notch 信号通路探讨电针“百会”“足三里”对脑缺血大鼠血管新生的影响[J]. 针刺研究, 2024, 49(10): 1030-1039.
Yang YY, Wu S, Ma SN, et al. Effect of electroacupuncture at "Baihui" (GV20) and "Zusanli" (ST36) on angiogenesis in the brain of middle cerebral artery occlusion rats based on HIF/VEGF/Notch signaling pathway [J]. *Acupunct Res*, 2024, 49(10): 1030-1039.
- 23 樊倩, 赵峰, 虞鹤鸣. 基于“六腑以通为用”论治缺血性脑卒中[J]. 山西中医药大学学报, 2024, 25(8): 928-933.
Fan Q, Zhao F, Yu HM. Treatment of ischemic stroke based on "the six fu-organs must keep their unobstructed" [J]. *J Shanxi Univ Chin Med*, 2024, 25(8): 928-933.
- 24 周帅, 赵瑞瑞, 薛明新. 基于脑肠轴探讨灸法治疗中风临床感悟[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(3): 123-125.
Zhou S, Zhao RR, Xue MX. Discussion on moxibustion treatment of apoplexy based on brain-gut axis[J]. *Chin J Inform Tradit Chin Med*, 2021, 28(3): 123-125.
- 25 于燕艳, 杨越, 蒋洁. 艾灸预处理通过调控 PI3K/AKT/mTOR 信号通路减轻脑缺血再灌注损伤大鼠炎症反应[J]. 针刺研究, 2024, 49(3): 238-246.
Yu YY, Yang Y, Jiang J. Moxibustion preconditioning reduces inflammatory response in rats with cerebral ischemia reperfusion injury by regulating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Acupunct Res*, 2024, 49(3): 238-246.
- 26 Zhou Z, Dun L, Xu H, et al. The neuroprotective effect of Yao Yi-moxibustion on ischemic stroke by attenuating NK- κ B expression in rats [J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(14): 791.
- 27 李超, 朱才丰, 王雪伟. 艾灸督脉组穴治疗卒中后认知障碍的临床研究[J]. 针灸临床杂志, 2022, 38(4): 27-32.
Li C, Zhu CF, Wang XW. Clinical study of Du meridian moxibustion in treating PSCI [J]. *J Clin Acupunct Moxibust*, 2022, 38(4): 27-32.
- 28 宫政, 李菲, 陈松美, 等. 艾灸督脉治疗脑梗死恢复期临床疗效观察[J]. 上海中医药大学学报, 2023, 37(2): 35-40.
Gong Z, Li F, Chen SM, et al. Clinical observation of moxibustion on Du meridian in treatment of cerebral infarction in recovery period [J]. *Acad J Shanghai Univ Tradit Chin Med*, 2023, 37(2): 35-40.
- 29 Piepke M, Clausen BH, Ludewig P, et al. Interleukin-10 improves stroke outcome by controlling the detrimental interleukin-17A response [J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 265.
- 30 Zhang J, Ling L, Xiang L, et al. Role of the gut microbiota in complications after ischemic stroke [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2024, 14: 1334581.
- 31 Jiang Y, Dai Y, Liu Z, et al. The role of IL-23/IL-17

- axis in ischemic stroke from the perspective of gut-brain axis[J]. *Neuropharmacology*, 2023, 231: 109505.
- 32 Lu T, Ma L, Xu Q, et al. Blood Th17 cells and IL-17A as candidate biomarkers estimating the progression of cognitive impairment in stroke patients [J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(8): e24581.
 - 33 Kumar R, Theiss AL, Venuprasad K. ROR γ t protein modifications and IL-17-mediated inflammation [J]. *Trends Immunol*, 2021, 42(11): 1037-1050.
 - 34 Deng G, Song X, Greene MI. FoxP3 in Treg cell biology: A molecular and structural perspective[J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 199(3): 255-262.
 - 35 赵彩娇, 湛桑妮, 李鑫, 等. 艾灸“足三里”对衰老大鼠氧化应激和肠道菌群的影响[J]. *中国针灸*, 2024, 44(3): 303-308.
Zhao CJ, Chen SN, Li X, et al. Effects of moxibustion at "Zusanli" (ST 36) on oxidative stress and intestinal flora in aging rats [J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2024, 44(3): 303-308.
 - 36 胡静, 杨华元. 艾灸刺激物理信号的传导途径及其作用 [J]. *中国针灸*, 2021, 41(5): 577-581.
Hu J, Yang HY. Conduction pathway and function of physical signals of moxibustion stimulus [J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2021, 41(5): 577-581.
 - 37 李奎武, 储浩然, 阮静茹, 等. 基于 SCF/c-kit 信号通路探讨艾灸干预对腹泻型肠易激综合征大鼠免疫功能稳态的影响[J]. *中国针灸*, 2023, 43(2): 177-185.
Li KW, Chu HR, Ruan JR, et al. Effect of moxibustion on immune function homeostasis in rats with diarrhea irritable bowel syndrome based on SCF/c-kit signaling pathway [J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2023, 43(2): 177-185.
 - 38 Zhang D, Ren J, Luo Y, et al. T cell response in ischemic stroke: From mechanisms to translational insights [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 707972.
 - 39 Lei T, Ye Y, Zhu X, et al. The immune response of T cells and therapeutic targets related to regulating the levels of T helper cells after ischaemic stroke[J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 25.
 - 40 Wang J, Gao Y, Yuan Y, et al. Th17 cells and IL-17A in ischemic stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(4): 2411-2429.
 - 41 Benakis C, Liesz A. The gut-brain axis in ischemic stroke: Its relevance in pathology and as a therapeutic target[J]. *Neurol Res Pract*, 2022, 4(1): 57.
 - 42 Wang K, Chen Y, Cao J, et al. Mechanism of Huangqi-Honghua combination regulating the gut microbiota to affect bile acid metabolism towards preventing cerebral ischaemia reperfusion injury in rats [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 2189-2199.
 - 43 Wang J, Hou Y, Mu L, et al. Gut microbiota contributes to the intestinal and extraintestinal immune homeostasis by balancing Th17/treg cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 143(Pt 3): 113570.
 - 44 Wang Q, Yuan L, Wang F, et al. Global research trends and prospects on immune-related therapy in ischemic stroke: A bibliometric analysis[J]. *Front Cell Neurosci*, 2024, 18: 1490607.
 - 45 王保国, 曹奕, 杨琪琪, 等. “灸刺督脉”疗法联合重复经颅磁刺激治疗卒中后疲劳: 随机对照试验[J]. *中国针灸*, 2024, 44(12): 1363-1369.
Wang BG, Cao Y, Yang QQ, et al. Moxibustion and acupuncture at acupoints of governor vessel combined with repeated transcranial magnetic stimulation for post-stroke fatigue: A randomized controlled trial [J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2024, 44(12): 1363-1369.
 - 46 Sadler R, Cramer JV, Heindl S, et al. Short-chain fatty acids improve poststroke recovery *via* immunological mechanisms[J]. *J Neurosci*, 2020, 40(5): 1162-1173.
 - 47 Zhao L, Xiao J, Li S, et al. The interaction between intestinal microenvironment and stroke[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29 Suppl 1: 185-199.
 - 48 Savigamin C, Samuthpongton C, Mahakit N, et al. Probiotic as a potential gut microbiome modifier for stroke treatment: A systematic scoping review of *in vitro* and *in vivo* studies[J]. *Nutrients*, 2022, 14(17): 3661.
 - 49 Ansari F, Neshat M, Pourjafar H, et al. The role of probiotics and prebiotics in modulating of the gut-brain axis [J]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1173660.

[本文编辑] 陈思润