

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.19.024

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20240709.0953.002\(2024-07-09\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20240709.0953.002(2024-07-09))

艾灸整复生物钟介导的巨噬细胞昼夜节律治疗 RA 免疫衰老的潜在机制研究进展*

何 流¹, 周海燕², 钟玉梅^{1△}

(1. 成都市第一人民医院/成都中医药大学附属中西医结合医院, 成都 610041;

2. 成都中医药大学, 成都 610075)

[摘要] 类风湿性关节炎(RA)是以慢性滑膜炎为特征的自身免疫性疾病。艾灸治疗能明显改善 RA 免疫紊乱,减轻滑膜炎,但其作用机制有待进一步深入。衰老是诱使 RA 发生、发展的关键因素,巨噬细胞作为免疫系统监测衰老的关键哨点,在 RA 的发病过程中发挥了重要作用。生物钟主导机体的昼夜节律,调控着多种蛋白表达和细胞功能,广泛参与多种疾病的生理、病理过程。生物钟参与巨噬细胞衰老,具有调节免疫紊乱的作用,而在影响 RA 发生、发展的机制中,巨噬细胞衰老作为重要的突破点已受到越来越多的关注。该文主要从生物钟参与巨噬细胞衰老角度出发,阐明 RA 可能的发病机制并分析艾灸通过调控生物钟参与巨噬细胞衰老,从而治疗 RA 的可行性。

[关键词] 生物钟;巨噬细胞;免疫衰老;艾灸;类风湿性关节炎;综述

[中图分类号] R593 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)19-3013-05

Research progress on potential mechanism of moxibustion restoring circadian rhythm mediated macrophage circadian rhythm in treatment of RA immunosenescence*

HE Liu¹, ZHOU Haiyan², ZHONG Yumei^{1△}

(1. Chengdu Municipal First People's Hospital/ Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine,

Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. Chengdu University of Traditional

Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610075, China)

[Abstract] Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease characterized by chronic synovial inflammation. Moxibustion treatment can significantly improve RA immune disorders and reduce synovial inflammation, but its mechanism of action needs to be further deepened. Senescence is a key factor that induces the occurrence and development of RA, and macrophages, as the key sentinel sites of the immune system to monitor aging, play an important role in the onset process of RA. The circadian clock dominates the circadian rhythm of the body, regulates the expression of a variety of proteins and cell functions, and is widely involved in the physiological and pathological processes of a variety of diseases. The circadian clock is involved in macrophage senescence and has the effect of regulating immune disorders. Among the mechanisms affecting the occurrence and development of RA, macrophage senescence has received more and more attentions as an important breakthrough point. Therefore, this article mainly elucidates the possible pathogenesis of RA from the perspective of the involvement of the biological clock in macrophage senescence and analyzes the feasibility of moxibustion in the treatment of RA by regulating the biological clock and participating in macrophage senescence.

[Key words] biological clock; macrophages; immunosenescence; moxibustion; rheumatoid arthritis; review

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是以关节肿胀疼痛、僵硬、畸形为主要症状的难治性自身

免疫疾病。调查结果显示^[1],全球约 1% 的人群深受 RA 的困扰,若有家族遗传史,发病风险可增加 3~5

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81973959);四川省科技厅自然科学基金青年项目(2023NSFSC1823);四川中医药文化协同发展研究中心一般项目(2022XT73)。△ 通信作者, E-mail: 704755938@qq.com。

倍。RA 好发于 50 岁以上人群,且随着年龄的增长,RA 的发病率增加,发病具有明显的年龄特征。流行病学数据表明,年龄是 RA 的重要危险因素^[2]。第 7 次全国人口普查数据显示,我国 60 岁以上老年人口比例高达 18.7%,老龄社会形态的深度演化或将引起老年慢性病的经济负担^[3]。而 RA 患者的老衰迹象明显且不受疾病持续时间的影响。针灸能改善衰老,在治疗 RA 方面取得良好效果,深入研究艾灸治疗衰老诱发 RA 的内在生物学机制,发现延缓衰老的针灸基础,对于 RA、强直性脊柱炎等多种与年龄相关的自身免疫性疾病的治疗具有重要的学术价值与社会意义。

1 诱发 RA 的关键因素

RA 由多种因素造成,发病机制复杂,而衰老是使 RA 发生、发展的关键因素。衰老是生命过程中分子、细胞和机体结构与功能改变的总称。研究人员发现,使用任何一种或所有衰老标志物进行评估时,RA 患者的细胞库被提前老化了约 20 年,过早衰老可能是 RA 炎症状态的结果^[4]。T 细胞对衰老较为敏感,衰老的 CD4⁺T 细胞容易导致滑膜炎,而炎症在加速 RA 病程中发挥了重要作用^[5]。在衰老过程中可观察到促炎细胞在组织中的积聚,在无明显感染的情况下机体会处于慢性低度炎症状态^[6]。通过减缓衰老可降低炎症反应^[7]。因此,延缓衰老对控制 RA 免疫炎症至关重要。

2 免疫系统的关键闸门调控作用

2.1 免疫失调

免疫系统作为病原信号的传感器和防御者,是监测衰老过程中出现衰退的“开关”。免疫系统随着年龄的增长发生免疫器官结构的破坏和免疫反应的功能障碍,出现免疫衰老,并导致许多与年龄相关的慢性疾病,免疫失调已成为衰老的一个特征^[8]。RA 的特征是免疫系统加速老化,这些衰老的迹象在早期 RA 患者中较为明显且不受疾病的持续时间影响^[9]。既往研究发现,免疫衰老与慢性滑膜炎之间存在复杂的关系,免疫衰老常并发机体的持续性炎症问题^[10]。

2.2 巨噬细胞衰老

巨噬细胞作为免疫系统监测衰老的关键哨点,是调控免疫与炎症的重要枢纽。研究发现,在衰老小鼠肝脏、大脑和肌肉组织中,促炎巨噬细胞表达上调^[11]。此外,不断有新的证据证明年龄相关的免疫代谢变化是巨噬细胞表型和功能改变的驱动因素。研究人员使用乳酸双歧杆菌 BB-12 能诱导巨噬细胞 M2 型极化,抑制巨噬细胞衰老,从而延缓免疫衰老^[12]。巨噬细胞衰老被认为是导致 M1 型巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞转变延迟的主要因素。正常巨噬细胞可以在骨整合过程中及时从 M1 表型转换为 M2 表型,但对于衰老巨噬细胞而言,这种转换通常会发生延迟,从而导致长时间的炎症并使骨整合受到影响^[13]。作者在

前期研究中发现,RA 大鼠体内巨噬细胞 M1 型极化增强,而 M2 型极化减弱,经艾灸治疗后,巨噬细胞极化失衡的状态被纠正,同时大鼠滑膜炎得到改善^[14],提示延缓巨噬细胞衰老,是抑制免疫衰老的重要方面。

3 节律性转录丢失

3.1 昼夜节律

免疫系统受免疫细胞内的系统信号和分子时钟的直接昼夜节律控制。免疫系统功能的昼夜节律振荡与机体免疫系统活动一致,使宿主能有效监测和抵抗威胁;同时,昼夜节律振荡还有助于促进组织恢复,清除循环中对机体有害成分^[15]。昼夜节律可能是充分理解巨噬细胞衰老的关键分子机制。巨噬细胞无论在数量还是质量上都表现出强烈的每天振荡。8%~15%的巨噬细胞转录组具有昼夜节律振荡。研究表明,巨噬细胞受内毒素刺激后,其表达细胞因子的水平呈明显的昼夜节律;体外培养的巨噬细胞在不同时间点用脂多糖刺激后,其分泌的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 和白细胞介素(interleukin, IL)-6 具有明显的昼夜节律^[16]。RA 患者疼痛和肿胀症状在每天晨起时最为严重,并在 1 d 中逐渐减轻,表明其症状具有昼夜节律性变化的特征。前期研究发现,RA 大鼠血清促炎细胞因子 TNF- α 峰相位后移,振幅增高,其分泌的昼夜节律紊乱,这可能与 RA 晨僵症状相关^[17],提示维持巨噬细胞昼夜节律对 RA 减轻症状尤为重要。

3.2 节律性转录丢失

巨噬细胞具有强大的自身昼夜节律。研究发现,巨噬细胞介导吞噬作用的昼夜节律随年龄的增长而消失,同时使用 JTK 循环分析发现年轻小鼠巨噬细胞有 680 个基因进行节律性转录,但在老年小鼠巨噬细胞中只有 53 个基因,在衰老的巨噬细胞中,昼夜节律转录被明显破坏,其中大部分转录失去了昼夜节律性^[18]。昼夜节律的失调会导致衰老加速及全身炎症的发展。巨噬细胞昼夜节律紊乱是全身炎症的关键中介,昼夜节律失调会将巨噬细胞的表型重塑为杀伤模式^[19]。与此同时,昼夜节律紊乱导致脾脏中 M1 型(促炎)和 M2 型(抗炎)巨噬细胞及细胞因子水平的丢失或倒置^[20]。在昼夜节律紊乱的巨噬细胞条件培养液中,巨噬细胞表现为促细胞因子分泌增强,且更容易形成泡沫细胞^[21],给器官和组织带来负面影响。因此,良性整复紊乱的昼夜节律,减缓巨噬细胞衰老,能使其功能和表型向有利于 RA 的方向发展。

4 巨噬细胞昼夜节律调节

4.1 生物钟

昼夜节律的维持受生物钟调控,生物钟通过钟基因和钟控基因对免疫系统的昼夜节律变化进行调控,从而在维持免疫稳态中发挥重要作用^[22]。迄今为止,已证实脑和肌肉组织芳香烃受体核转运蛋白的类似

蛋白 1 (brain and muscle Arnt-like protein 1, Bmal1)、昼夜自发输出周期蛋白 kaput (circadian locomoter output cycles Kaput, CLOCK)、CRY (Cryptochrome) 及 PER (Period) 等是哺乳动物的核心钟基因。Bmal1 是巨噬细胞免疫反应和细胞代谢的重要调控因子,敲除 Bmal1 的巨噬细胞中促炎细胞因子 IL-1 β 和 TNF- α 表达下调,而抗炎细胞因子 IL-10 表达上调^[23]。Bmal1^{-/-} 小鼠巨噬细胞大多情况下钟基因的昼夜节律表达丢失,同时分泌细胞因子的节律性消失^[24]。Rev-erb α 激动剂 SR9011 加重巨噬细胞炎症反应^[25],小分子拮抗剂 SR8278 抑制 Rev-erb α 促进巨噬细胞向吞噬型 M2 型极化^[26]。研究发现,核心钟基因深度参与 RA 的炎症病理过程,在 RA 大鼠下丘脑 Clock 和 Bmal1 mRNA 表达水平下调;与此同时,滑膜组织中检测出表达紊乱的核心生物钟基因 Clock 和 Bmal1^[27]。可见,核心生物钟基因在 RA 表达紊乱,纠正核心生物钟基因表达有利于整复巨噬细胞昼夜节律,进而延缓衰老。

4.2 Kruppel 样因子 4 (Kruppel-like factor 4, KLF4)

老年小鼠的免疫失调是由于多种免疫反应丧失昼夜节律调节^[28]。KLF4 作为钟控基因,调节免疫反应的昼夜节律,与人类先天免疫功能之间存在密切联系。在年轻的巨噬细胞中,核心分子钟通过 KLF4 维持健康的免疫反应;而在衰老的巨噬细胞中,尽管核心分子钟功能正常,但 KLF4 的活性降低。研究人员发现,衰老巨噬细胞中 KLF4 丰度和节律性降低会引起昼夜节律调控丧失,随后导致老年巨噬细胞的免疫功能障碍^[29]。在年轻的巨噬细胞中,KLF4 基因表达在 ZT12 时出现日增加,这与细胞吞噬的日峰值相似。运用短发夹 RNA (short hairpin RNA, shRNA) 慢性病毒干扰腹腔巨噬细胞 KLF4 表达,导致 KLF4 和吞噬基因 Gba 和 Rab3d 的昼夜节律性丧失,并破坏了大肠杆菌颗粒吞噬活性的昼夜节律^[30]。在年轻巨噬细胞中,KLF4 的敲除再现了衰老巨噬细胞中节律性吞噬作用的丧失。因此,除了核心生物钟,作为调控免疫昼夜节律钟控基因的 KLF4 对巨噬细胞衰老也发挥了重要作用。

5 艾灸的调控作用

5.1 RA 治疗

中医根据 RA 的临床表现,将其归入痹病范畴。艾灸疗法具有简便易行、经济实用等优点,应用于延缓衰老具有其独特的优势。研究显示,艾灸肾俞、足三里穴可有效改善 RA 关节疼痛、肿胀、僵硬症状,降低 C 反应蛋白、类风湿因子水平,抑制炎症反应^[31-32]。动物实验发现,艾灸具有良好的抗炎效应,其可降低 RA 大鼠关节滑膜组织增生、纤维组织增生,减少血管翳生成,降低促炎细胞因子的表达,抑制 RA 大鼠关节炎的加重^[33]。艾灸治疗 RA 的原理研究也取得

不少进展。针灸在神经系统、内分泌系统及免疫系统的共同作用下,能通过多靶点、多途径治疗 RA,但艾灸在延缓 RA 免疫衰老钟的作用机制还有待深入。

5.2 免疫衰老过程调节

老龄化是全球研究焦点,如何更好地延缓衰老、改善免疫系统退化等受到广泛关注。艾灸在延缓衰老中具有优势,能对免疫衰老进行多方面、多层次的综合调节。对亚急性衰老大鼠模型予以艾灸后,大鼠皮肤组织超氧化物歧化酶活性增强、丙二醛水平及血清 IL-6 水平降低,表明艾灸可通过调节氧化应激紊乱及免疫因子来延缓皮肤衰老^[34]。研究发现,艾灸可调节脾脏指数,改善免疫器官脾组织、胸腺组织的受损情况,提高免疫抑制兔的免疫功能^[35]。对老年人足三里、关元和膻中穴隔药灸的临床观察发现^[36],老年人接受艾灸后,自然杀伤细胞活性和 IL-2 合成分泌能力与艾灸前比较明显增强,艾灸后的 CD3、CD4 T 淋巴细胞数、CD4/CD8 比值、T 淋巴细胞总数也有明显增加,提示艾灸可能通过调节免疫功能来延缓衰老。

6 生物钟调控

6.1 生物钟深度参与 RA 的病理机制

研究发现,RA 大鼠核心钟基因 Clock、Bmal1 表达下调^[27],敲除核心钟基因则产生严重的关节炎炎症反应^[37]。另有研究显示,Bmal1 敲除的骨髓细胞可破坏变异和炎性单核细胞的昼夜节律振荡^[38]。而在骨关节炎小鼠模型中,per2 基因转录的昼夜节律振荡在成年小鼠的软骨中明显降低,且 per2 转录的强力振荡也在未成年小鼠软骨中得到验证^[39]。由此可见,钟基因不仅影响着 RA 相关炎症因子的循环水平和节律性分泌,还与昼夜节律和骨破坏密切相关。

6.2 生物钟在艾灸效应机制中的作用

针灸作为一种非光性授时因子,对节律相位的转移具有调节作用,而其导引节律相位可能是通过调节生物钟基因的表达来实现。研究发现,艾灸可通过上调 RA 大鼠不同组织中 Clock、Bmal1 mRNA 和蛋白表达水平,下调细胞焦亡经典信号通路中的效应分子表达,以此来减轻滑膜炎炎症反应^[27],揭示了艾灸可能通过钟基因调控细胞焦亡治疗 RA 的新机制。谈倩等^[40]研究发现,针刺结合艾灸更能有效调节膝关节关节炎大鼠关节炎症损伤状况,可能通过局部的温热刺激及机械刺激,下调滑膜瞬时感受器电位香草酸受体 4 (transient receptor potential vanilloid 4, TRPV4) 通路的表达,促进滑膜组织中 Clock、Bmal1 的表达,同步中央外周时钟节律,从而起到抗炎和减轻痛觉过敏的作用。针灸治疗 RA 可能通过调节生物钟基因的表达,以此调控相关细胞因子和激素水平紊乱的昼夜节律,从而产生治疗作用。

7 小结与展望

现有研究结果证明,艾灸可能通过调节巨噬细胞衰老,抑制免疫紊乱,从而改善 RA 的滑膜炎和慢

性损伤,而其中具体机制可能是通过艾灸调控特定生物钟,参与巨噬细胞的衰老,从而调节免疫功能,改善了 RA 的慢性损伤。目前尚无直接从生物钟参与巨噬细胞衰老角度探讨艾灸治疗 RA 的潜在机制的研究。但研究已间接提示,艾灸可能通过调控特定生物钟,参与巨噬细胞衰老,抑制 RA 免疫紊乱。

艾灸可通过调控免疫紊乱发挥治疗作用,但其对 RA 免疫的调控机制仍有待深入。免疫紊乱是 RA 的核心发病机制,而生物钟介导的巨噬细胞衰老是 RA 免疫紊乱过程的重要参与者,也是研究热点之一,对其深入研究可为艾灸调节免疫紊乱提供新的证据。今后的研究中,可通过临床试验收集 RA 患者在艾灸治疗前后的滑膜,从中提取出巨噬细胞,通过体外培养收集巨噬细胞中的生物钟蛋白,采用高通量测序筛选出关键的生物钟基因,这些生物钟基因是艾灸发挥疗效的关键靶点。同时可结合动物实验,采用流式细胞术验证艾灸对 RA 生物钟基因表达和巨噬细胞衰老的调控作用。进一步还可通过基因敲除或过表达关键钟基因,寻找艾灸调控巨噬细胞衰老的分子通路,结合分子实验,采用细胞培养、Nanolive 无标记 3D 成像等技术观察艾灸通过调控生物钟参与巨噬细胞衰老的过程。

参考文献

- [1] VANESSA L K, CYNTHIA S C, JEFFREY A S, et al. Family history of rheumatic, autoimmune, and nonautoimmune diseases and risk of rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Care Res*, 2021, 73(2):180-187.
- [2] MAHNAZ S, SIMA N, AMIR H B, et al. The burden of rheumatoid arthritis and low back pain in north Africa and middle East from 1990 to 2019: results from the global burden of disease study 2019 [J]. *Int J Rheum Dis*, 2023, 26(11):2170-2182.
- [3] 乔晓春. 从“七普”数据看中国人口发展,变化和现状[J]. *人口与发展*, 2021, 27(4):74-88.
- [4] DUONG L, RADLEY H G, LEE B, et al. Macrophage function in the elderly and impact on injury repair and cancer [J]. *Immun Ageing*, 2021, 18(1):4.
- [5] GAO Y, CAI W, ZHOU Y, et al. Immunosenescence of T cells: a key player in rheumatoid arthritis [J]. *Inflamm Res*, 2022, 71(12):1449-1462.
- [6] AKBARI M, SHANLEY D P, BOHR V A, et al. Cytosolic self-DNA-A potential source of chronic inflammation in aging [J]. *Cells*, 2021, 10(12):3544.
- [7] 单思, 张婉晴, 王沐晨, 等. 基于分子对接的二至丸影响衰老细胞模型 AQP1、AQP2 表达的潜在物质基础与作用机制研究 [J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(7):1612-1616.
- [8] SALMINEN A. Immunosuppressive network promotes immunosenescence associated with aging and chronic inflammatory conditions [J]. *J Mol Med*, 2021, 99(11):1553-1569.
- [9] BAUER M E. Accelerated immunosenescence in rheumatoid arthritis: impact on clinical progression [J]. *Immun Ageing*, 2020, 17:6.
- [10] TEISSIER T, BOULANGER E, COX L S. Interconnections between inflammaging and immunosenescence during ageing [J]. *Cells*, 2022, 11(3):359.
- [11] 宋占春, 陈亮, 何廉旗, 等. 恩格列净对急性心肌梗死患者心功能和外周血单核细胞极化的影响 [J]. *重庆医学*, 2023, 52(16):2471-2476.
- [12] ZHANG D Y, PAN Z Y, YU X K, et al. Bifidobacterium lactis BB-12 attenuates macrophage aging induced by D-galactose and promotes M2 macrophage polarization [J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019:4657928.
- [13] 赵燕, 沈学庆, 周亮, 等. 自体血液回输技术对全麻下髋关节置换术患者凝血功能、炎症因子及免疫功能的影响 [J]. *保健医学研究与实践*, 2022, 19(7):34-38.
- [14] ZHONG Y M, ZHANG L L, LU W T, et al. Moxibustion regulates the polarization of macrophages through the IL-4/STAT6 pathway in rheumatoid arthritis [J]. *Cytokine*, 2022, 152:155835.
- [15] BEGEMANN K, NEUMANN A M, OSTER H. Regulation and function of extra-SCN circadian oscillators in the brain [J]. *Acta Physiol*, 2020, 229(1):e13446.
- [16] LELLUPITIYAGE S S, MAS-ROSARIO J A, LIN H H, et al. Macrophage circadian rhythms are differentially affected based on stimuli [J]. *Integr Biol*, 2022, 14(3):62-75.
- [17] 吴晓, 刘旭光, 景中坤, 等. 择时艾灸对实验性 RA 大鼠足肿胀度、血清 TNF- α 含量及其昼夜节律的影响 [J]. *中国针灸*, 2018, 38(11):1189-1194.
- [18] BLACHER E, TSAI C, LITICHEVSKIY L, et al. Aging disrupts circadian gene regulation and function in macrophages [J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(2):229-236.

- [19] SHIRATO K, SATO S. Macrophage meets the circadian clock; implication of the circadian clock in the role of macrophages in acute lower respiratory tract infection[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 826738.
- [20] AIELLO I, FEDELE M L M, ROMAN F, et al. Circadian disruption promotes tumor-immune microenvironment remodeling favoring tumor cell proliferation[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(42): eaaz4530.
- [21] SUN Z, YUAN W, LI L, et al. Macrophage CD36 and TLR4 cooperation promotes foam cell formation and VSMC migration and proliferation under circadian oscillations[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2022, 15(5): 985-997.
- [22] PATKE A, YOUNG M W, AXELROD S. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(2): 67-84.
- [23] WANG X L, WOLFF S, KORPEL N, et al. Deficiency of the circadian clock gene *Bmal1* reduces microglial immunometabolism[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 586399.
- [24] TIMMONS G A, O'SIORAIN J R, KENNEDY O D, et al. Innate rhythms: clocks at the center of monocyte and macrophage function[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1743.
- [25] WOLFF S, WANG X L, JIAO H, et al. The effect of REV-ERB α agonist SR9011 on the Immune response and cell metabolism of microglia[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 550145.
- [26] LEE J, KIM D E, GRIFFIN P, et al. Inhibition of REV-ERBs stimulates microglial amyloid-beta clearance and reduces amyloid plaque deposition in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Aging Cell*, 2020, 19(2): e13078.
- [27] 余明芳, 陈白露, 何欣玲, 等. 时辰艾灸干预类风湿性关节炎模型大鼠核心钟基因 *Clock*、*Bmal1* 表达与细胞焦亡的关系[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(35): 5700-5706.
- [28] 汪家文, 李佳洁, 吴君, 等. 肠道菌群通过 NLRP3 介导神经炎症调节 rmTBI 导致的记忆功能障碍[J]. *重庆医学*, 2023, 52(20): 3048-3054.
- [29] CURTIS A M, CARROLL R G. Aging alters rhythms in immunity[J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(2): 153-154.
- [30] IPSEIZ N, CZUBALA M A, BART V M T, et al. Effective in vivo gene modification in mouse tissue-resident peritoneal macrophages by intraperitoneal delivery of lentiviral vectors[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019, 16: 21-31.
- [31] 唐洁, 武平, 余泽芸, 等. 艾灸对类风湿关节炎患者血清中白三烯 B₄、基质金属蛋白酶-9 的影响[J]. *针刺研究*, 2023, 48(5): 488-493.
- [32] WANG Y, TAO S, YU Z, et al. Effect of moxibustion on β -EP and Dyn levels of pain-related indicators in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6637554.
- [33] 钟玉梅, 吴菲, 罗小超, 等. 基于 PD-1/PD-L1 信号通路艾灸治疗类风湿性关节炎的机制研究[J]. *中国针灸*, 2020, 40(9): 976-982.
- [34] 王彩霞. 艾灸对 D-半乳糖致亚急性衰老模型大鼠皮肤氧化应激及血清 IL-6 的影响[J]. *中国民族民间医药*, 2022, 31(19): 9-11.
- [35] 方慧, 熊罗节, 孙妮娜, 等. 不同灸法对免疫抑制兔脾脏、胸腺影响的组织学研究[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(7): 2523-2530.
- [36] 马长春, 朴松兰, 杨小存, 等. 衰老机制及针灸抗衰老研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(10): 2542-2546.
- [37] NARASIMAMURTHY R, HATORI M, NAYAK S K, et al. Circadian clock protein cryptochrome regulates the expression of proinflammatory cytokines[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(31): 12662-12667.
- [38] NGUYEN K D, FENTRESS S J, QIU Y, et al. Circadian gene *Bmal1* regulates diurnal oscillations of Ly6C (Hi) inflammatory monocytes[J]. *Science*, 2013, 341(6153): 1483-1488.
- [39] YOSHIDA K, HASHIRAMOTO A, OKANO T, et al. TNF- α modulates expression of the circadian clock gene *Per2* in rheumatoid synovial cells[J]. *Scand J Rheumatol*, 2013, 42(4): 276-280.
- [40] 谈倩, 李柏村, 李静, 等. 针刺结合艾灸调节骨关节炎模型大鼠滑膜昼夜节律蛋白的表达[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(11): 1714-1719.