DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.07.030

免疫细胞在缺血性中风中的因果作用及正邪理论探讨

朱小敏[1],陈炜[2],卓桂锋[1],蒲珊珊[1],吴林[3]
(1.广西中医药大学研究生院,广西 南宁 530022;2.广西中医药大学第一附属医院,广西 南宁 530023;
3.广西中医药大学科学实验中心,广西 南宁 530022)

摘要:目的 现代研究表明免疫细胞在缺血性中风(IS)发生发展过程中具有重要作用,当前对于中医正邪理论的内在机制尚未阐明,不少研究认为免疫细胞介导的免疫平衡可能是中医正邪理论的重要机制之一。利用孟德尔随机化(MR)分析验证免疫细胞对IS的因果关系,并进一步探讨正邪理论的内在机理。方法 基于公开的遗传数据,将免疫细胞作为工具变量进行双样本MR分析,探索731个免疫细胞表型与IS患病风险之间的因果关系。将逆方差加权(IVW)方法作为主要方法用作标准分析,使用加权中位数、MR-Egger、Simple mode和Weighted mode作为补充,Cochrans Q检验异质性、MR-Egger截距检验测试水平多效性。结果 经FDR校正后,发现仍有11个免疫细胞表型具有统计学意义(经FDR校正的$p<0.05$):其中CD27 on memory B cell、CD27 on sw mem、CD27 on $CD24^+$ $CD27^+$、CD27 on IgD^- $CD38^{dim}$、CD27 on IgD^- $CD38^-$、CD27 on IgD^- $CD38^{br}$、CD25 on IgD^+和CD25 on IgD^+ $CD38^{dim}$对IS的起危险作用;CD40 on $CD14^-$ $CD16^+$ monocyte、CD40 on $CD14^+$ $CD16^-$ monocyte、CD40 on $CD14^+$ $CD16^+$ monocyte对IS起保护作用。其中8个在B细胞组,3个在单核细胞组。以B细胞上的CD27、CD25和单核细胞上的CD40为显著。结论 通过遗传学手段证实了免疫细胞在IS中发挥关键作用,为阐明正邪理论的内在机理提供一定的参考。

关键词:正邪理论;缺血性中风;免疫细胞;孟德尔随机化分析
中图分类号:R255.2 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)07-0145-07

Causal Role of Immune Cells in Ischemic Stroke and Discussion on Theory of Positive Qi-Evil

ZHU Xiaomin[1], CHEN Wei[2], ZHUO Guifeng[1], PU Shanshan[1], WU Lin[3]
(1. Graduate School, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530022, Guangxi, China;
2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi, China;
3. Science Experimental Center, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530022, Guangxi, China)

Abstract: *Objective* Modern studies have shown that immune cells play an important role in the occurrence and development of ischemic stroke(IS). Currently, the intrinsic mechanism of the theory of positive Qi-evil in traditional Chinese medicine(TCM) has not been elucidated yet, and a number of studies have suggested that immune cell-mediated immune homeostasis may be one of the important mechanisms of the theory of positive Qi-evil in TCM. In this paper, it used Mendelian randomization(MR) analysis to verify the causal relationship of immune cells on IS and further explored the intrinsic mechanism of the theory of positive Qi-evil. *Methods* Based on publicly available genetic data, a two-sample MR analysis was performed using immune cells as instrumental variables to explore the causal relationship between 731 immune cell phenotypes and the risk of IS prevalence. The inverse variance weighting(IVW) method as the primary method was used as a standardized analysis, supplemented by the use of weighted median, MR-Egger, Simple mode and Weighted mode. Cochrans Q was used to test the heterogeneity, and MR-Egger intercept to test the test-level pleiotropy. *Results* Eleven immune cell phenotypes were still found to be statistically significant($P<0.05$ corrected for FDR): among them CD27 on memory B cell, CD27 on sw mem, CD27 on $CD24^+CD27^+$, CD27 on IgD^-CD38^{dim}, CD27 on IgD^-CD38^-, CD27 on IgD^-CD38^{br}, CD25 on IgD^+ and CD25 on IgD^+ $CD38^{dim}$ play a dangerous role for IS; CD40 on $CD14^-$ $CD16^+$ monocyte, CD40 on $CD14^+CD16^-$ monocyte and CD40 on $CD14^+$ $CD16^+$ monocyte play a protective role for IS. Eight of them were in the B-cell group and three in the monocyte group. It was significant with CD27 and CD25 on B cells and CD40 on monocytes. *Conclusion* This study confirmed that immune cells play a key role in IS by genetic means, providing some reference for elucidating the intrinsic mechanism of the theory of positive Qi-evil.

Keywords: positive Qi-evil theory; ischemic stroke; immune cells; Mendelian randomization analysis

基金项目:国家自然科学基金项目(82160885,82060844);广西中医脑病临床研究中心项目(桂科AD20238028);广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划项目(桂教人才〔2020〕6号);广西中医药重点学科建设项目(GZXK-Z-20-13)
作者简介:朱小敏(1997-),女,湖北荆州人,博士在读,研究方向:中医药防治脑病。
通讯作者:吴林(1970-),男,广西桂林人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中医药防治脑病。E-mail:wul2003@gxtcmu.edu.cn。

缺血性中风(IS)是一种常见的脑血管疾病,主要是由于脑血管阻塞导致脑部血液供应障碍,导致局部脑损伤,临床表现为头晕、头痛、语言及感觉运动功能障碍,重者可出现昏迷[1]。中风是全球范围内致残和致死的第二大诱因,其中缺血性中风约占 87%,随着人口老龄化与中风患者年轻化,中风发病率不断上升[2-3],截至 2019 年全球中风患者已有 1.01 亿例,致死人数为 655 万例[4]。因此早期识别并迅速干预 IS 有助于减少其致残与致死风险。现代医学发现,免疫反应参与 IS 发生、发展的全过程,是决定 IS 临床表现和预后的关键[5-7]。中医正邪理论源于《黄帝内经》,是中医学认识和诊疗疾病的经典理论。正气指机体抵御外邪、抗病修复的能力,邪气泛指一切致病因素。中医认为中风发病基础为正气亏虚,风、痰、气、火、瘀等邪气亢盛而发病[8]。免疫细胞介导的免疫反应包含巨噬细胞、淋巴细胞、自然杀伤细胞、外周血白细胞等,在维持脑内细胞平衡方面发挥着双重作用,研究显示,与对照组相比,IS 患者中枢记忆 $CD8^+$ T 细胞、效应记忆 $CD8^+$ T 细胞、B 细胞和 Th1 细胞计数显著下降,M1 巨噬细胞和巨噬细胞评分明显升高[9],各组分之间相互作用形成抗病和促病因素,与中医学正邪理论可相呼应[10]。

孟德尔随机化(MR)是利用遗传变异作为工具变量评估暴露与结果因果关系的分析方法[11],能够减少观察性研究的缺陷,降低混淆和反向因果关系的影响。先前观察性研究认为免疫细胞与 IS 间存在着复杂而紧密的关联[12]。为了进一步探索免疫细胞在 IS 发病风险中的作用,我们进行了双样本 MR 分析,从基因遗传学层面来研究免疫细胞与 IS 间的因果关系。基于中医正邪理论,探讨 731 种免疫细胞与 IS 的中医逻辑关联,为阐明正邪理论的内在机理提供一定的参考。

1 材料和方法

采用双样本 MR 设计来研究 731 个免疫细胞与缺血性卒中之间的因果关系。该分析设计基于以下 3 个关键假设:(1)单核苷酸多样性(single nucleotide polymorphisms,SNP)与暴露密切相关;(2)SNP 与潜在的混杂因素无关;(3)SNP 仅通过暴露(免疫细胞)影响结局(缺血性卒中)。我们的研究方案遵循 MR 分析的 STROBE - MR 指南,所有方法都按照指南和规定进行[13]。

1.1 GWAS 数据来源 731 种免疫细胞特性来自迄今为止发表的最大的外周血免疫表型 GWAS,各免疫特征的 GWAS 数据均可从全球免疫评估目录公开获得(登录号从 GCST90001391 到 GCST90002121,共 731 个)[14],该 GWAS 分析基于 3757 名欧洲个体的队列,利用高密度阵列进行基因分型检测了约 2200 万个 SNP 对 731 种免疫细胞表型的影响,SNP 通过撒丁岛序列参考小组进行估算[15]。其中包括 389 个反应细胞表面抗原的平均荧光强度(MFI)、118 个绝对细胞计数(AC)、32 个代表细胞大小、形状、颗粒含量等免疫细胞形态特征的形态参数(MP)及 192 个代表免疫细胞在总细胞数量中比例的相对细胞计数(RC)。

IS 的 GWAS 数据来源自先前的一项研究[16],该研究对多达 521 612 人(67 162 例病例和 454 450 例对照)进行了全基因组关联荟萃分析,参与者来自 29 项研究,其检测了约 800 万个次要等位基因频率(MAF) ≥ 0.01 的 SNPs 与中风的相关性。在位于 32 个中风风险基因座内的 149 个基因中,包含任何缺血性中风(AIS)的 20 个基因座(其中 12 个新发现)。本研究数据选取 67 162 例中风病例中具有欧洲遗传血统的 IS 参与者(34 217 例病例;406 111 例对照),以减少异质性。文章中使用的 GWAS 数据均来源于公共数据库,可免费下载。文章中涉及的 GWAS 均得到了各自机构的伦理批准。

1.2 工具变量的选择 我们在 MR 分析中根据最近研究[17-18]以相同的标准来测定显著工具变量,以 $P < 1 \times 10^{-5}$ 为筛选条件选择与免疫性状强相关的工具变量。为了获得独立的工具变量(IVs),我们基于基因组样本数据对其进行修剪,连锁不平衡(LD) r2 阈值设置为 0.1,物理距离在 500 kb 内。为了避免 MR 分析中的弱工具变量带来偏差,计算其 F 检验值,根据 $F > 10$ 对数据进行过滤,删除 $F < 10$ 的弱工具变量。我们协调了暴露和结果 SNP,以确保对相同效应等位基因的效应估计一致。

1.3 MR 统计分析 为了评估 731 种免疫细胞对 IS 的影响,本研究使用逆方差加权方法(IVW)作为主要方法用作标准分析,IVW 方法是一种整合每个 SNP 的 Wald 比值的方法,可以假设工具变量只能通过特定的暴露影响结果。当 SNP 不存在水平多效性时,IVW 方法可以实现无偏倚的因果效应估计,分析结果最可靠[19]。此外采用加权中位数法[20]、MR - Egger 回归方法[21]、简单模式(Simple mode)和加权模式(Weighted mode)进行补充,用于评估由于无效 IVs 和水平多效性导致的偏倚。当 IVW 方法的 $P < 0.05$ 且 IVW 与其余 4 种方法的方向一致时,结果具有统计学意义。考虑到可能的假阳性,我们使用错误发现率(FDR)方法来进行多重校正,经过 FDR 校正后的 $P < 0.05$,则认为统计检验结果具有显著性。

研究对 MR 分析结果进行一系列敏感性分析,以评估潜在的异质性和水平多效性。通过 MR - Egger 截距测试检测作为评估水平多效性的指标,如果 $P > 0.05$,则表明没有多效性。Cochran ś Q 检验表明所选 IVs 的异质性,如果 $P > 0.05$,表示没有异质性,则将 IVW 方法视为主要方法,否则,使用随机效应模型。最后,我们采用了 leave - one - out("留一法")方法[22],逐个去除 SNP,剩余 SNP 的因果效应与全部 SNP 的 MR 分析结果比较,以确定单个 SNP 是否会导致结果的偏差。所有分析均使用 R 4.3.1 软件(http:// www. Rproject. org)中的 TwoSampleMR 软件包进行。

2 结果

免疫细胞表型特征对 IS 易感性的因果效应估计总结于插页Ⅺ图 1,鉴于免疫性状被分为 4 种表型(MFI、AC、RC 和 MP),包括 7 组免疫细胞,在选择和协调 IVs 后,检测到的与 IS 相关的免疫特征可以总结为 35 个 MFI、4 个 ACs、13 个 RC 和 2 个 MP 性状,根据这 7 个图谱对免疫性状进行分类,发现 TBNK 5 个,B 细胞 21 个,T 细胞成熟阶段 4 个,Treg 12 个,髓系细胞 3 个,单核细胞 9 个。经 FDR 方法多重校正后,其中有 11 个免疫细胞表型仍然具有统计学意义($P_{FDR} < 0.05$)(如表 1、插页Ⅺ图 2),免疫性状均为 MFI,其中 8 个在 B 细胞组,3 个在单核细胞组。

其中 8 种免疫表型是 IS 发病的危险因素:CD27 on memory B cell[通过使用 IVW 方法,其对 IS 风险的比值比(OR)为

1.035,95% 置信区间(CI) = 1.016 ~ 1.053,P = 0.016]、CD27 on sw mem(OR: 1.033,95% CI = 1.017 ~ 1.049,P = 0.003)、CD27 on CD24$^+$ CD27$^+$(OR: 1.027, 95% CI = 1.012 ~ 1.042, P = 0.01)、CD27 on IgD$^-$ CD38^{dim}(OR: 1.035, 95% CI = 1.019 ~ 1.052, P = 0.003)、CD27 on IgD$^-$ CD38$^-$(OR: 1.043, 95% CI = 1.023 ~ 1.063, P = 0.003)、CD27 on IgD$^-$ CD38^{br}(OR: 1.085, 95% CI = 1.038 ~ 1.134, P = 0.01)、CD25 on IgD$^+$(OR: 1.031,95% CI = 1.013 ~ 1.049, P = 0.03)、CD25 on IgD$^+$ CD38^{dim}(OR: 1.031, 95% CI = 1.013 ~ 1.049, P = 0.02)。

检测到 3 种免疫表型可降低 IS 发病风险:CD40 on CD14$^-$ CD16$^+$ monocyte (OR: 0.97, 95% CI = 0.96 ~ 0.98, P = 0.009)、CD40 on CD14$^+$ CD16$^-$ monocyte (OR: 0.96, 95% CI = 0.94 ~ 0.97, P = 0.001)、CD40 on CD14$^+$ CD16$^+$ monocyte (OR: 0.97, 95% CI = 0.95 ~ 0.98, P = 0.002)。

表 1 与 IS 风险相关的免疫细胞信息

免疫细胞特征	细胞类型	免疫性状	OR 值	校正后 P 值
CD27 on sw mem	B 细胞	MFI	1.03	0.004
CD27 on CD24$^+$ CD27$^+$	B 细胞	MFI	1.03	0.018
CD27 on IgD$^-$ CD38^{dim}	B 细胞	MFI	1.03	0.003
CD27 on IgD$^-$ CD38$^-$	B 细胞	MFI	1.04	0.004
CD27 on IgD$^-$ CD38^{br}	B 细胞	MFI	1.08	0.018
CD27 on memory B cell	B 细胞	MFI	1.04	0.017
CD25 on IgD$^+$	B 细胞	MFI	1.03	0.031
CD25 on IgD$^+$ CD38^{dim}	B 细胞	MFI	1.03	0.023
CD40 on CD14$^+$ CD16$^+$ monocyte	单核细胞	MFI	0.97	0.003
CD40 on CD14$^+$ CD16$^-$ monocyte	单核细胞	MFI	0.96	0.001
CD40 on CD14$^-$ CD16$^+$ monocyte	单核细胞	MFI	0.97	0.009

3 讨论

3.1 MR 结果分析 在本项研究中,我们基于大规模遗传联合体的 MR 分析,首次系统地分析了 731 种免疫细胞对 IS 发生风险的影响。我们关注到免疫细胞,特别是以 CD27 和 CD25 分子水平为标志的 B 细胞亚群和以 CD40 为标志的单核细胞亚群,分别加速和降低了 IS 发病风险。IS 的风险随着 CD27 on memory B cell、CD27 on sw mem、CD27 on CD24$^+$ CD27$^+$、CD27 on IgD$^-$ CD38^{dim}、CD27 on IgD$^-$ CD38$^-$、CD27 on IgD$^-$ CD38^{br}比例的增加而上升,以 CD27 为标志的 B 细胞亚群为主。B 细胞亚群可呈递抗原、产生细胞因子,是许多炎症性疾病的关键特征[23]。在 IS 病理进程中,免疫细胞的活化和炎症反应扮演着关键角色,其中 B 细胞的异常增加尤为突出,研究显示 IS 小鼠脑组织中 B 细胞显著增多[24]。CD27 作为 B 细胞的一个重要亚群标记,对免疫记忆形成和细胞活化至关重要[25]。CD27 可激活 B 细胞释放分泌干扰素(IFN)-γ、肿瘤坏死因子(TNF)-α 和白细胞介素(IL)-6 等促炎细胞因子[26],其中未转换记忆 B 细胞是 IL-6 的主要产生者,而转换记忆 B 细胞是 TNF-α 的主要产生者[27]。BSEISO E A 等[28]、JIANG J 等[29]研究发现, TNF-α、IL-6 活性含量增加可能与 IS 的发生相关。表明 CD27$^+$ B 细胞亚群的活化可能加剧 IS 的炎症反应,从而推动病情发展。

CD25 on IgD$^+$、CD25 on IgD$^+$ CD38^{dim}也被证明与 IS 风险增加有关。CD25,即白细胞介素 2(IL-2)受体链-α(IL-2Rα),在活化的成熟 T 细胞和 B 细胞上广泛表达,具有重要的免疫调节功能[30],研究表明,小鼠和人类 B 细胞上的 CD25 表达在激活后增加,产生高亲和力的 IL-2 受体[31]。急性 IS 患者血浆 sIL-2Rα 水平在中风 24 h 内显著升高,且 IS 功能预后较差的患者 3 个月 IL-2Rα 水平更是明显高于预后良好的患者,揭示了 IL-2Rα 在 IS 发病及不良结局中的关联性[32]。此外,与健康对照相比,IS 患者 CD25 表达增强,并释放更多的促炎细胞因子 TNF-α 和 IL-6[33],进一步证实了 CD25 在 IS 炎症反应中的重要地位,其水平变化可视为评估 IS 风险及预后的生物标志物。

反之,IS 的风险随着单核细胞上 CD40 表达(CD40 on CD14$^-$ CD16$^+$ monocyte、CD40 on CD14$^+$ CD16$^-$ monocyte、CD40 on CD14$^+$ CD16$^+$ monocyte)的升高而降低。CD40 与单核细胞的相互作用在免疫应答中至关重要,当单核细胞活化时,CD40 与其配体 CD40L 结合触发一系列信号传导,调节单核细胞的活化和功能[34]。研究证实 CD40 能显著降低 IS 风险,起到保护作用[35]。一项长达 15 年、涉及 700 人的前瞻性研究显示,高水平的 CD40 与较低的中风发病率显著相关[36]。而在 880 例房颤患者的分析中,发现 CD40 配体水平越低,中风风险越高[37]。这些发现支撑了 CD40 在 IS 预防中的重要地位。

3.2 中医正邪理论与 IS 内在免疫调节机制 缺血性脑卒中(IS)在中医学归属于“中风”,因发病快如风、如矢之中的而得名,以猝然昏仆,口舌歪斜,言语不利等为主症。中医理论认为疾病源于正气与致病因素斗争中正不敌邪、机体阴阳失衡,正如《内经》言:“正气存内,邪不可干”。正气虚是疾病发生的内在基础,邪气是外在的致病条件,正气充足则邪气难侵。中风发病源于正气亏虚,邪气乘虚而入,如《灵枢·刺节真邪论》中云:“营卫稍衰,则真气去,邪气独留,发为偏枯”[38],描绘了这一过程,即营卫功能减退,使外邪入侵引发半身不遂。故中风病机常有“内虚邪中”之论。

“正气”作为维持人体生理功能和抵御疾病的基石,其效能与营卫、气血、脏腑功能平衡相关[39],与现代免疫学中免疫系统的防护和自稳机制相呼应[40]。正气的强弱直接影响机体抵御外邪的能力,其充盈离不开营卫、气血和脏腑功能的和谐运作。如《灵枢·邪客》曰:“营气者……化以为血,以荣四末,内注五脏六腑”;《医旨绪余》言:“卫气者,为言护卫周身,温分肉,肥腠理,不使外邪侵犯也”。营卫,作为人体第一道防线,通过营气滋养和卫气温煦,确保气血充盈,抵御外邪入侵。《素问·调经论篇》言:“人之所有者,血与气耳”。气血作为生命活动的根本,不仅是脏腑功能的基础,也是免疫细胞活力的源泉,共同维系着机体的动态平衡。“邪气”,作为破坏正气平衡、引发疾病的外在或内在因素,与现代医学中的致病因子相对应,若邪气打破正气的稳固,破坏营卫气血、脏腑间的和谐,则会引发疾病。正气的盛衰可直接影响免疫细胞的活化、分化与功能调节[10]。当正气充足时,免疫细胞处于健康活跃状态,能有效识别和清除“邪气”,维持机体内外环境稳定。反之,若正气衰减,免疫细胞的调节机制失衡,可能导致免疫抑制或过度激活,表现为免疫细胞功能紊乱,如 T 淋巴细胞亚群比例失衡、B 细胞过度活化或抑制,进而影响免疫系统的整体效能。

此外,在探讨IS病理生理机制时,现代免疫学免疫调节过程与中医学正邪交争的观念有着一致性。神经系统与免疫系统之间存在着双向交流[41],神经系统通过释放神经递质(如去甲肾上腺素和乙酰胆碱),直接作用于免疫细胞表面受体,调节免疫细胞的活性和功能,免疫活性细胞可能会转化为免疫抑制细胞,从而影响免疫应答的强度和方向[42-43],这一过程体现了正气(即机体的防御能力)与邪气(指致病因素)之间的动态平衡与转化,这种由保护性免疫向病理性免疫反应的转变,正是"正邪交争"理论在IS免疫病理中的体现,揭示了免疫细胞在IS发生发展中的双刃剑角色。

本次研究结果发现CD27和CD25为标志的B细胞亚群可加速IS的发病风险,在IS进程中,免疫细胞的活化和炎症反应是病邪侵袭的直接后果,与中医邪气理论相契合。病邪侵入体内后,免疫系统产生应激反应,CD27和CD25标记的B细胞增加,可能反映了免疫系统对外邪的对抗反应,试图恢复机体平衡。然而,一方面,炎症反应可以保护大脑免受缺血性和过度毒性损伤、促进神经恢复和再生;另一方面,神经炎症又激活驻留细胞,通过影响中性粒细胞、单核细胞和不同亚型的B细胞等炎症细胞加剧脑损伤,导致病情进展[44-45]。形成正邪斗争过程中此消彼长导致的双重作用,因此CD27和CD25的过度表达导致的炎症反应可以被视为邪气的体现,需通过调节阴阳平衡和气血流动来恢复机体平衡状态。相比之下,单核细胞上CD40表达的增加,减少IS发病风险的作用,符合中医正气增强的概念,表明机体能更有效地清除病邪,维护机体阴阳平衡。CD40与CD40L的相互作用,通过正向调节免疫应答,控制炎症反应,避免过度免疫造成的二次伤害。因此,对于IS患者,调节CD27、CD25与CD40介导的免疫反应和炎症水平是重要的治疗策略之一,以扶正祛邪、平衡体内阴阳,促进康复。

中医治疗IS首重"扶正祛邪"[46-47],通过补益人体正气,提高正向免疫细胞活性及浸润状态。生脉注射液(由红参、麦冬、五味子组成)源于生脉散,为养阴益气的代表方,研究发现该方能有效调节脑缺血再灌注后脑部免疫细胞的异常激活,平衡脑部NK细胞与B细胞的比例至正常状态,进而减轻炎症反应[48]。冯珍珍课题组[49]通过构建MCAO脑缺血再灌注模型大鼠的实验,证实了健脾补肾活血方能显著减少模型大鼠脑组织内的$CD3^+$和$CD8^+$T淋巴细胞,同时增加$CD4^+$细胞数量,有效缩小脑梗死区域。表明健脾补肾活血方可通过调节T淋巴细胞亚群动态平衡,减轻免疫炎症反应及免疫应答所介导神经细胞的凋亡,发挥脑保护作用。因此"扶正去邪"原则实质上是对免疫系统功能的调节和优化,中药复方可通过其复杂的生物活性成分,作用于多个免疫细胞亚群,调节免疫应答,减轻IS后的炎症损伤,达到扶正固本的治疗目的。

3.3 研究局限性 本研究虽揭示了免疫细胞与IS之间的关联,但仍有一定局限性。首先,样本选择可能存在偏倚,研究对象的地域、种族可能影响结果的普遍性。其次,免疫细胞功能状态的动态变化及其与疾病进程的交互作用,仍需更深入地纵向研究予以阐明。未来研究可扩大样本量,增加研究的多样性。可结合转录组、蛋白质组和代谢组等多组学分析及基础实验,深入解析免疫细胞功能改变的分子机制。此外,还可开展临床试验,探索不同干预措施对免疫细胞的影响,以及这些变化如何改善临床结局,以期实现个性化医疗的目标。

4 结论

综上,本研究基于孟德尔随机化方法,以中医正邪理论与现代免疫学为切入点,初步探讨了免疫细胞在IS发病中的核心作用,进一步阐释了中医正邪理论的科学内涵。本研究发现CD27和CD25标记的B细胞亚群增加与IS风险上升关联,而CD40表达的单核细胞则呈保护效应,这与中医正邪理论中正气与邪气的平衡不谋而合。中医方药已展现出调节免疫细胞、减轻炎症的潜力,因此,运用中医药靶向CD27、CD40等免疫细胞可能为IS治疗开辟新途径。

参考文献

[1] FESKE S K. Ischemic stroke[J]. Am J Med, 2021, 134(12): 1457-1464.
[2] SAINI V, GUADA L, YAVAGAL D R. Global epidemiology of stroke and access to acute ischemic stroke interventions[J]. Neurology, 2021, 97(20 Suppl 2): S6-S16.
[3] BÉJOT Y, DELPONT B, GIROUD M. Rising stroke incidence in young adults: more epidemiological evidence, more questions to be answered[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(5): e003661.
[4] COLLABORATORS G2S. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. Lancet Neurol, 2021, 20(10): 795-820.
[5] FU Y, LIU Q, ANRATHER J, et al. Immune interventions in stroke[J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11(9): 524-535.
[6] XU S B, LU J N, SHAO A W, et al. Glial cells: role of the immune response in ischemic stroke[J]. Front Immunol, 2020, 11: 294.
[7] ENDRES M, MORO M A, NOLTE C H, et al. Immune pathways in etiology, acute phase, and chronic sequelae of ischemic stroke[J]. Circ Res, 2022, 130(8): 1167-1186.
[8] 黄晨蓉, 张强, 曾芳月. 中风Ⅳ号协定方治疗超急性期缺血性卒中临床观察[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(1): 95-97.
[9] LIU R, SONG P, GU X, et al. Comprehensive landscape of immune infiltration and aberrant pathway activation in ischemic stroke[J]. Front Immunol, 2021, 12: 766724.
[10] 王郅宜, 高磊, 胡少朴, 等. 从正邪理论探讨肿瘤免疫微环境及中医辨治思路[J]. 现代中医临床, 2023,30(6):71-75.
[11] EMDIN C A, KHERA A V, KATHIRESAN S. Mendelian randomization[J]. Jama, 2017, 318(19): 1925.
[12] KRISHNAN S, O'BOYLE C, SMITH C J, et al. A hyperacute immune map of ischaemic stroke patients reveals alterations to circulating innate and adaptive cells[J]. Clin Exp Immunol, 2021, 203(3): 458-471.
[13] SKRIVANKOVA V W, RICHMOND R C, WOOLF B A R, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using mendelian randomization: the STROBE-MR statement[J]. JAMA, 2021, 326(16): 1614-1621.
[14] ORRÙ V, STERI M, SIDORE C, et al. Complex genetic signatures in immune cells underlie autoimmunity and inform therapy[J]. Nat Genet, 2020, 52(10): 1036-1045.
[15] SIDORE C, BUSONERO F, MASCHIO A, et al. Genome sequencing elucidates Sardinian genetic architecture and augments association analyses for lipid and blood inflammatory markers[J]. Nat

Genet, 2015, 47(11): 1272 – 1281.
[16] MALIK R, CHAUHAN G, TRAYLOR M, et al. Multiancestry genome – wide association study of 520, 000 subjects identifies 32 loci associated with stroke and stroke subtypes[J]. Nat Genet, 2018, 50(4): 524 – 537.
[17] WANG C D, ZHU D D, ZHANG D J, et al. Causal role of immune cells in schizophrenia: Mendelian randomization (MR) study[J]. BMC Psychiatry, 2023, 23(1): 590.
[18] CAO R R, YU X H, XIONG M F, et al. The immune factors have complex causal regulation effects on bone mineral density[J]. Front Immunol, 2022, 13: 959417.
[19] BURGESS S, SMALL D S, THOMPSON S G. A review of instrumental variable estimators for Mendelian randomization[J]. Stat Methods Med Res, 2017, 26(5): 2333 – 2355.
[20] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, HAYCOCK P C, et al. Consistent estimation in mendelian randomization with some invalid instruments using a weighted Median estimator[J]. Genet Epidemiol, 2016, 40(4): 304 – 314.
[21] BURGESS S, THOMPSON S G. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR – Egger method[J]. Eur J Epidemiol, 2017, 32(5): 377 – 389.
[22] BURGESS S, BOWDEN J, FALL T, et al. Sensitivity analyses for robust causal inference from mendelian randomization analyses with multiple genetic variants[J]. Epidemiology, 2017, 28(1): 30 – 42.
[23] LUND F E. Cytokine – producing B lymphocytes – key regulators of immunity[J]. Curr Opin Immunol, 2008, 20(3): 332 – 338.
[24] KORF J M, HONARPISHEH P, MOHAN E C, et al. CD11b^{high} B cells increase after stroke and regulate microglia[J]. J Immunol, 2022, 209(2): 288 – 300.
[25] BORST J, HENDRIKS J, XIAO Y L. CD27 and CD70 in T cell and B cell activation[J]. Curr Opin Immunol, 2005, 17(3): 275 – 281.
[26] DANIELSEN A K, DAMGAARD C, MASSARENTI L, et al. B – cell cytokine responses to *Porphyromonas gingivalis* in patients with periodontitis and healthy controls[J]. J Periodontol, 2023, 94(8): 997 – 1007.
[27] CASTLEMAN M J, SANTOS A L, LESTEBERG K E, et al. Activation and pro – inflammatory cytokine production by unswitched memory B cells during SARS – CoV – 2 infection[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1213344.
[28] BSEISO E A, ABDEL – AAL S A, NASR M, et al. Nose to brain delivery of melatonin lipidic nanocapsules as a promising post – ischemic neuroprotective therapeutic modality[J]. Drug Deliv, 2022, 29(1): 2469 – 2480.
[29] JIANG J, DAI J C, CUI H. Vitexin reverses the autophagy dysfunction to attenuate MCAO – induced cerebral ischemic stroke *via* mTOR/Ulk1 pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 99: 583 – 590.
[30] BRISSLERT M, BOKAREWA M, LARSSON P, et al. Phenotypic and functional characterization of human CD25$^+$ B cells[J]. Immunology, 2006, 117(4): 548 – 557.
[31] INABA A, TUONG Z K, ZHAO T X, et al. Low – dose IL – 2 enhances the generation of IL – 10 – producing immunoregulatory B cells[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 2071.
[32] ZHAO H P, LI F F, HUANG Y Y, et al. Prognostic significance of plasma IL – 2 and sIL – 2Rα in patients with first – ever ischaemic stroke[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 237.
[33] VOGELGESANG A, MAY V E L, GRUNWALD U, et al. Functional status of peripheral blood T – cells in ischemic stroke patients[J]. PLoS One, 2010, 5(1): e8718.
[34] VAN KOOTEN C, BANCHEREAU J. CD40 – CD40 ligand[J]. J Leukoc Biol, 2000, 67(1): 2 – 17.
[35] CHEN L Y, PETERS J E, PRINS B, et al. Systematic Mendelian randomization using the human plasma proteome to discover potential therapeutic targets for stroke[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6143.
[36] MANTANI P T, LJUNGCRANTZ I, ANDERSSON L, et al. Circulating CD40$^+$ and CD86$^+$ B cell subsets demonstrate opposing associations with risk of stroke[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(1): 211 – 218.
[37] LIP G Y H, PATEL J V, HUGHES E, et al. High – sensitivity C – reactive protein and soluble CD40 ligand as indices of inflammation and platelet activation in 880 patients with nonvalvular atrial fibrillation: relationship to stroke risk factors, stroke risk stratification *Schema*, and prognosis[J]. Stroke, 2007, 38(4): 1229 – 1237.
[38] 丁元庆, 陈哲, 唐赛雪.《内经》对构建中风病机理论的作用与影响[J]. 山东中医药大学学报, 2020, 44(4): 343 – 349.
[39] 周亚, 赵春生, 张煦, 等. 基于“正气存内,邪不可干”论治心力衰竭的免疫损伤[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(11): 2024 – 2028.
[40] 舒天丽. 传统中医免疫的概念和认识[J]. 世界中医药, 2011, 6(4): 277 – 279.
[41] BLALOCK J E. The immune system as the sixth sense[J]. J Intern Med, 2005, 257(2): 126 – 138.
[42] PAVLOV V A, TRACEY K J. The vagus nerve and the inflammatory reflex—linking immunity and metabolism[J]. Nat Rev Endocrinol, 2012, 8(12): 743 – 754.
[43] NANCE D M, SANDERS V M. Autonomic innervation and regulation of the immune system (1987 – 2007)[J]. Brain Behav Immun, 2007, 21(6): 736 – 745.
[44] JAYARAJ R L, AZIMULLAH S, BEIRAM R, et al. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1): 142.
[45] BRUCE A J, BOLING W, KINDY M S, et al. Altered neuronal and microglial responses to excitotoxic and ischemic brain injury in mice lacking TNF receptors[J]. Nat Med, 1996, 2(7): 788 – 794.
[46] 任晋婷, 谢颖桢. 王永炎教授对中风病“阳(气)虚化风”的病机认识[J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40(8): 621 – 625.
[47] 刘泽华, 闫咏梅, 李涛, 等. 基于黄元御“一气周流”理论从补益肝肾论治中风[J]. 中国医药导报, 2021, 18(21): 118 – 121.
[48] 王欢欢. 生脉注射液干预脑缺血再灌注效应环节及对炎症环节跨器官调控研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2023.
[49] 冯珍珍. 健脾补肾活血方对脑缺血大鼠 T 淋巴细胞亚群的影响[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2017.

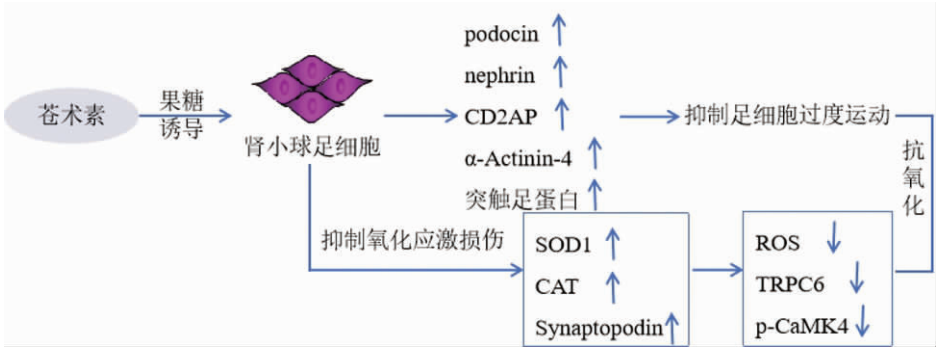


图 9　苍术素抗氧化作用机制

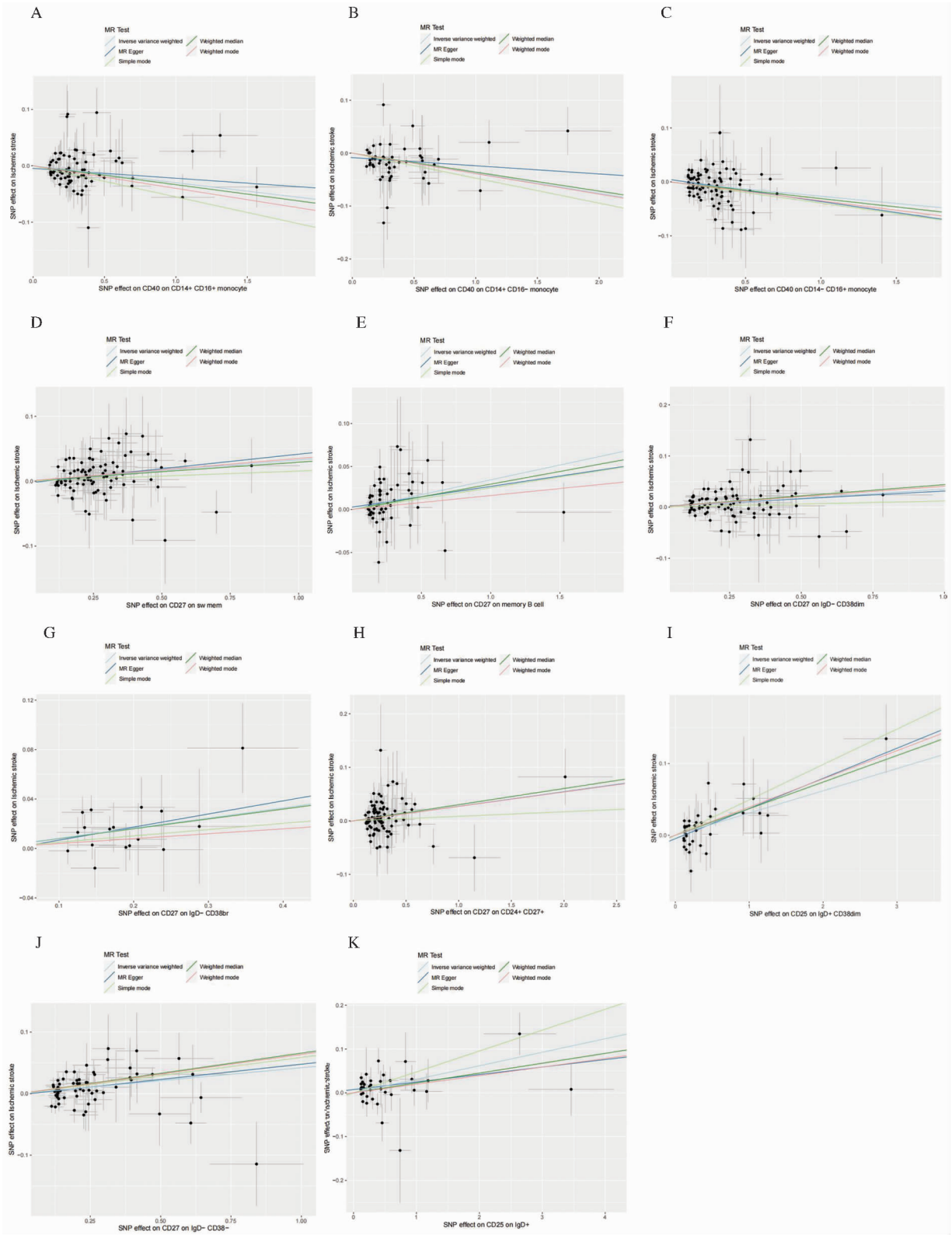
免疫细胞在缺血性中风中的因果作用及正邪理论探讨

（正文见 145 – 149 页）

exposure	nsnp	method	pval	OR(95% CI)
CD25 on IgD+ CD38dim	37	Weighted median	**0.005**	1.038 (1.011 to 1.065)
	37	Inverse variance weighted	**<0.001**	1.031 (1.014 to 1.049)
CD25 on IgD+	37	Weighted median	0.086	1.023 (0.997 to 1.049)
	37	Inverse variance weighted	**<0.001**	1.031 (1.013 to 1.050)
CD27 on CD24+ CD27+	91	Weighted median	**0.012**	1.031 (1.007 to 1.055)
	91	Inverse variance weighted	**<0.001**	1.027 (1.013 to 1.042)
CD27 on IgD− CD38−	63	Weighted median	**<0.001**	1.068 (1.038 to 1.099)
	63	Inverse variance weighted	**<0.001**	1.043 (1.023 to 1.063)
CD27 on IgD− CD38br	17	Weighted median	**0.017**	1.083 (1.014 to 1.156)
	17	Inverse variance weighted	**<0.001**	1.085 (1.039 to 1.134)
CD27 on IgD− CD38dim	84	Weighted median	**<0.001**	1.045 (1.019 to 1.072)
	84	Inverse variance weighted	**<0.001**	1.036 (1.019 to 1.052)
CD27 on memory B cell	59	Weighted median	**0.040**	1.030 (1.001 to 1.059)
	59	Inverse variance weighted	**<0.001**	1.035 (1.017 to 1.054)
CD27 on sw mem	88	Weighted median	**0.016**	1.030 (1.006 to 1.055)
	88	Inverse variance weighted	**<0.001**	1.033 (1.018 to 1.049)
CD40 on CD14− CD16+ monocyte	91	Weighted median	**0.004**	0.970 (0.949 to 0.990)
	91	Inverse variance weighted	**<0.001**	0.974 (0.961 to 0.987)
CD40 on CD14+ CD16− monocyte	54	Weighted median	**0.004**	0.965 (0.941 to 0.989)
	54	Inverse variance weighted	**<0.001**	0.963 (0.948 to 0.978)
CD40 on CD14+ CD16+ monocyte	76	Weighted median	**0.001**	0.967 (0.948 to 0.987)
	76	Inverse variance weighted	**<0.001**	0.970 (0.958 to 0.983)
				1

注：$P<0.05$ 表示免疫细胞与 IS 之间存在因果关系；OR <1 表示该免疫细胞降低 IS 发病风险；OR >1 表示该免疫细胞增加 IS 发病风险。

图 1　不同免疫细胞与 IS 之间的关系森林图



注：A 为 CD40 on CD14$^+$ CD16$^+$ monocyte；B 为 CD40 on CD14$^+$ CD16$^-$ monocyte 与 IS 风险的散点图；C 为 CD40 on CD14$^-$ CD16$^+$ monocyte；D 为 CD27 on sw mem；E 为 CD27 on memory B cell；F 为 CD27 on IgD$^-$ CD38^{dim}；G 为 CD27 on IgD$^-$ CD38^{br}；H 为 CD27 on CD24$^+$ CD27$^+$；I 为 CD25 on IgD$^-$ CD38^{dim}；J 为 CD27 on IgD$^-$ CD38$^-$；K 为 CD25 on IgD$^+$ 与 IS 发病风险关系的散点图；其中 X 轴表示 SNP 对免疫细胞的影响；Y 轴表示 SNP 对 IS 的影响；每一个黑点代表一个独立的 SNP，不同颜色线条代表不同 MR 方法的 95% CI；直线斜率代表 MR 的因果关系，5 种 MR 方法线条方向一致，且$P<0.05$ 时结果具有统计学意义。

图 2 各免疫细胞对 IS 影响的散点图