

本文引用:刘琼,曹佳男,刘密,谢辉,常小荣. TRPV1参与针和灸不同刺激方式对小鼠 ghrelin 和 GHSR-1 α 的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(10):1487-1492.

TRPV1参与针和灸不同刺激方式对小鼠 ghrelin 和 GHSR-1 α 的影响

刘琼¹,曹佳男¹,刘密¹,谢辉^{2*},常小荣^{1*}

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.郴州市第一人民医院西院,湖南郴州 423699)

〔摘要〕目的 通过观察针刺或热灸不同刺激方式干预足三里穴区对 C57BL/6 野生型小鼠和 TRPV1^{-/-}基因敲除小鼠血浆中脑肠肽(ghrelin)和大脑前额叶皮质中生长激素促分泌素受体-1 α (GHSR-1 α)含量的改变,探讨辣椒素受体 1(TRPV1)参与针、灸不同刺激方式对胃肠功能调控通路 ghrelin-GHSR-1 α 调节的差异性。**方法** 24 只 C57BL/6 野生型小鼠随机分为 C57BL/6 空白组、C57BL/6 针刺组和 C57BL/6 热灸组,每组 8 只;24 只 TRPV1^{-/-}基因敲除小鼠随机分为 TRPV1^{-/-}空白组、TRPV1^{-/-}针刺组和 TRPV1^{-/-}热灸组,每组 8 只。C57BL/6 空白组和 TRPV1^{-/-}空白组不予以处理;C57BL/6 针刺组和 TRPV1^{-/-}针刺组给予手针干预;C57BL/6 热灸组和 TRPV1^{-/-}热灸组给予热灸干预。采用 ELISA 检测小鼠血浆中 ghrelin 含量和 Western Blot 法检测小鼠大脑前额叶皮质中 TRPV1 和 GHSR-1 α 表达水平的变化。**结果** C57BL/6 野生型小鼠中,与 C57BL/6 空白组相比,C57BL/6 针刺组与热灸组血浆 ghrelin 表达水平均显著降低($P<0.05$),前额叶皮层 TRPV1 含量表达增加($P<0.05$)、GHSR-1 α 降低($P<0.05$),但三者针刺组和热灸组间差异无统计学意义($P>0.05$)。TRPV1^{-/-}基因敲除小鼠中,与 TRPV1^{-/-}空白组对比,TRPV1^{-/-}针刺组和热灸组血浆 ghrelin 水平和前额叶皮质 GHSR-1 α 表达水平差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 针刺、热灸均可通过激活 TRPV1 的生物活性,影响胃肠功能调控通路 ghrelin-GHSR-1 α 的调节作用。

〔关键词〕 针刺;热灸;足三里;脑肠肽;生长激素促分泌素受体-1 α ;辣椒素受体 1

〔中图分类号〕R245.8

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.10.003

Effect of TRPV1 on ghrelin and GHSR-1 α in Mice by Participating in Different Stimulation Methods of Acupuncture and Moxibustion

LIU Qiong¹, CAO Jia'nan¹, LIU Mi¹, XIE Hui^{2*}, CHANG Xiaorong^{1*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. West Hospital of Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou, Hunan 423000, China)

〔Abstract〕 Objective To observe the effect of different stimulation modalities of acupuncture or pyretic moxibustion in the "Zusanli" (ST36) acupoint on changes of content of plasma ghrelin and growth hormone secretagogue receptor-1 (GHSR-1 α) in the prefrontal cortex of C57BL/6 wild-type mice and TRPV1^{-/-} knockout mice, and to explore the difference of capsaicin receptor 1 (TRPV1) involved in acupuncture and pyretic moxibustion stimulation on ghrelin-GHSR-1 α regulation of gastrointestinal function pathway. **Methods** 24 C57BL/6 wild-type mice were randomly divided into C57BL/6 blank group, C57BL/6 acupuncture group and C57BL/6 hot pyretic moxibustion group, with 8 mice in each group. 24 TRPV1^{-/-} knockout mice were randomly divided into TRPV1^{-/-} blank group, TRPV1^{-/-} acupuncture group and TRPV1^{-/-} pyretic moxibustion group, with 8 mice in each group. C57BL/6 blank group

〔收稿日期〕2021-07-24

〔基金项目〕国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2015CB554502);院士工作站(石学敏)开放基金项目(2019YSZJJ13);国家自然科学基金项目(81874509);国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室(国中医药人教函[2019]41 号);常小荣国家级教学名师工作室建设项目。

〔作者简介〕刘琼,女,博士,研究方向:针灸治病机理研究。

〔通信作者〕* 谢辉,男,教授,硕士研究生导师,E-mail:xiehui8663@163.com;常小荣,女,教授,博士研究生导师,E-mail:rxchang1956@163.com。

and TRPV1⁺ blank group were not treated; C57BL/6 acupuncture group and TRPV1⁺ acupuncture group were given hand acupuncture intervention; C57BL/6 pyretic moxibustion group and TRPV1⁺ pyretic moxibustion group were given pyretic moxibustion intervention. ELISA was used to detect the ghrelin content in mouse plasma, and Western blot was used to detect the changes of TRPV1 and GHSR-1 α expression levels in mouse brain prefrontal cortex. **Results** In C57BL/6 wild-type mice, compared with the C57BL/6 blank group, plasma ghrelin level in C57BL/6 acupuncture group and pyretic moxibustion group was significantly decreased ($P<0.05$), while the content of TRPV1 in prefrontal cortex was increased ($P<0.05$) and GHSR-1 α was decreased ($P<0.05$), but there was no statistically significant difference between the acupuncture group and pyretic moxibustion group ($P>0.05$). In TRPV1⁺ knockout mice, compared with the TRPV1⁺ blank group, there was no statistically significant difference in plasma ghrelin level and prefrontal cortex GHSR-1 α expression level in TRPV1⁺ acupuncture group and pyretic moxibustion group ($P>0.05$). **Conclusion** Both acupuncture and pyretic moxibustion can affect the regulation of gastrointestinal functional pathway ghrelin-GHSR-1 α by activating the biological activity of TRPV1.

[**Keywords**] acupuncture; pyretic moxibustion; "Zusanli" (ST36); ghrelin; growth hormone secretagogue receptor-1; capsaicin receptor 1

针灸是中医外治疗法的重要组成部分,以中医基础理论为指导,经脉学说为依据,针刺和艾灸等方式为治疗手段,具有适应症广泛、疗效显著、不良反应少、远期效果稳定等特点。在针灸的众多适应症中,临床上以胃肠疾病防治的疗效较为突出,如功能性消化不良、消化道溃疡、溃疡性结肠炎、便秘等,且被大量临床与基础研究所证实^[1-4]。随着研究的不断深入,针灸通过影响中枢神经系统中重要神经递质的释放,而实现对胃肠功能的调节作用已成为现阶段研究的关注焦点^[5-7]。大脑是中枢神经系统中最大和最复杂的组织结构,而皮质是大脑中最为高级和发达的结构,具有调节机体与周围环境平衡的作用,尤其对胃肠机能的整体调控作用也是皮质的重要功能之一。相关研究^[8-10]证实,针灸对胃肠道的保护作用是通过调节脑肠肽(ghrelin)及其受体蛋白生长激素促分泌素受体-1 α (growth hormone secretagogue receptor-1 α , GHSR-1 α)的表达而起效,更有实验^[11]发现辣椒素受体1(transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)参与了这一起效的过程,而且发挥着重要的作用。

近年来,TRPV1参与胃肠道功能的调节作用已经成为研究热点^[12]。TRPV1有可能是通过影响外周和中枢神经系统中 ghrelin 受体 GHSR-1 α 的含量,进而促进胃肠运动、调节胃酸分泌和保护胃肠黏膜等方面来实现对胃肠疾病的防治作用,也可能是实现脑肠互通的重要通路之一^[8-11]。本研究以此为切入点,探讨针刺、热灸不同刺激方式干预足三里穴区对 C57BL/6 同源野生型小鼠和 TRPV1⁺ 基因敲除小鼠血浆中 ghrelin 和前额叶皮质中 GHSR-1 α 含量的改变,探讨 TRPV1 是否介导针刺、热灸对胃肠功能调

控通路 ghrelin-GHSR-1 α 的调节过程中。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

健康雄性 C57BL/6 同源野生型小鼠 24 只, TRPV1⁺ 基因敲除小鼠 24 只, 体质量 20~25 g, 由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供 [清洁级, 许可证号: SCXK-(军)2012-004]。在中国中医科学院针灸研究所动物房(SPF级)分笼喂养, 自然照明, 自由摄食、饮水。将 24 只 C57BL/6 同源野生型小鼠随机分成 3 组, 每组 8 只, 分别为空白组、针刺组、热灸组; 24 只 TRPV1⁺ 基因敲除小鼠同样随机分成 3 组, 每组 8 只, 分别为空白组、针刺组、热灸组。适应性喂养 1 周后进行实验。整个实验过程中对动物的各种处理均遵照中华人民共和国科技部 2006 年颁布的有关动物的使用及伦理学规定。

1.2 主要试剂及仪器

0.9%氯化钠注射液、10%水合氯醛、4%多聚甲醛(北京华兴科诺生物技术有限公司, 批号: H14020310; 302-17-0; 30525-89-4); Tris、丙烯酰胺、甘氨酸、甲叉双丙烯酰胺、丽春红(美国 Sigma, 批号: 77-86-1; 122775-19-3; 56-40-6; 110-26-9/3761-53-3); HRP goat anti-mouse IgG、HRP goat anti-rabbit IgG(美国 Proteintech, 批号: 18166590); 蛋白酶抑制剂(德国 Merck, 批号: G106673); 蛋白磷酸酶抑制剂(瑞士 Roche, 批号: G101932-71-2); 显影液(中国 WellBiology, 批号: BTH2601); GHSR-1 α (英国艾博抗贸易有限公司, 批号: ab188986)。

电子天平(sartorius 公司, 型号: MSA36S); 小动物电子秤(上海佑科仪表有限公司, 型号: YP10002);

生理温度刺激仪(上海艾睿生物科技有限公司,型号:BME410C);小动物专用吸入麻醉机(美国 MATRX 公司,型号:VMR);LABOFUGE400R Thermo离心机(美国赛默飞世尔公司,型号:ST8);酶标分析仪(芬兰 Labsystems Multiskan MS,型号:MS-352);台式高速冷冻离心机(湘仪,型号:H1650R);全自动酶标洗板机(汇松,型号:PW-812);恒温培养箱(光明,型号:DHP-500);摇床(中国江苏其林贝尔公司,型号:TS-92);电泳仪(美国 Bio-rad,型号:164-5050);转膜仪(中国北京六一仪器厂,型号:DYCZ-40A);旋涡混合器(中国江苏其林贝尔公司,型号:QL-901);针灸针(苏州针灸用品有限公司,型号:0.18 mm×13 mm)。

1.3 干预方法

1.3.1 腧穴选择与定位及操作 足三里穴参照李忠仁主编的《实验针灸学》及拟人比照法^[13]选取。足三里穴在大鼠膝关节外侧、腓骨小头下缘 5 mm 处胫腓骨间隙中,左右两侧各一。

1.3.2 针刺方法 用吸入性气体(异氟烷)对各组小鼠进行麻醉后,剔除穴区局部皮肤的毛,确定小鼠穴位定位后,用 75% 的酒精消毒,选 20 号半寸毫针,直刺进针 1 mm,行提插,持续 5 min(针刺操作均由同一人完成)。

1.3.3 热灸方法 用吸入性气体麻醉(异氟烷)对小鼠进行麻醉后,剔除穴区局部皮肤的毛后,用 75% 的酒精对穴区进行消毒。采用生理温度刺激仪进行穴位热灸刺激,将温度探头直接放置在相应穴位皮肤之上,强度设置为 43.5 °C,每次热灸持续 30 min。

1.4 实验步骤

24 只雄性 C57BL/6 同源野生型小鼠和 24 只雄性 TRPV1^{-/-}基因敲除小鼠适应性喂养 1 周后,分别随机分成空白组、针刺组、热灸组,正常喂食。空白组不予以处理;针刺组给予手针干预;热灸组给予热灸干预。实验期间所有实验小鼠给予异氟烷吸入性麻醉,干预完成后予以 1% 戊巴比妥钠行腹腔麻醉,取血及大鼠前额叶皮质。观察血浆中 ghrelin 表达水平及其受体 GHSR-1 α 在前额叶皮质中的表达变化。

1.5 ELISA 法检测小鼠血浆中 ghrelin 表达水平

将各种试剂移至室温(18~25 °C)平衡至少 30 min,按前述方法配置试剂,备用。加样,分别设标准孔和待测样本孔,每孔分别加标准品或待测样本 50 μ L,

立即加入辣根过氧化物酶标记物工作液 50 μ L(空白孔不加)轻轻晃动混匀,覆上板贴,置 37 °C 温育 40 min。弃去孔内液体,甩干,洗板 5 次。每次浸泡 2 min,200 μ L 每孔,甩干。依序每孔加底物溶液 90 μ L,37 °C 避光显色 20 min。依序每孔加终止液 50 μ L,终止反应。在反应终止后 5 min 内,用酶标仪在 450 nm 波长依序测量各孔的光密度(OD 值)。

1.6 Western blot 法检测大鼠前额叶皮质中 TRPV1 和 GHSR-1 α 含量表达

剪取 0.25 g 组织,用冰预冷 PBS 洗组织,加入 200 μ L RIPA 裂解液于匀浆器中反复研磨组织直至看不见组织块;冰上裂解 10 min 后,4 °C,12 000 r/min 离心 15 min,离心半径 10 cm,取上清移至 EP 管中。采用 BCA 蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度。将 TEMED 加入配好的分离胶中混匀后开始灌胶,等分离胶凝结后再灌入含有 TEMED 的浓缩胶,插入梳子,等凝胶后取出梳子,将准备好样品移液至空槽中,第一孔上 maker,其他孔上已变性蛋白样品,开始电泳,约 2 h。再次,切胶 TRPV1(95 kDa)、GRSH-1 α (40 kDa),并准备 1 张与胶同样大小的滤纸和 1 张 NC 膜,然后与滤纸一起放入转膜缓冲液中,至完全浸透。盖上仪器,接通电源,转 300 mA,GRSH-1 α 转膜完毕后,用 1 \times TBST 配制 5% 脱脂奶粉,将膜浸入后,室温封闭 1.5 h。用 1 \times TBST 将一抗按照一定比例稀释(TRPV1 1:500,GRSH-1 α 1:1 000),膜与一抗一起孵育,4 °C 过夜。孵育结束,1 \times TBST 洗 3 次,每次 15 min。将稀释后的二抗与膜共同孵育 90 min,兔抗(R)稀释比例 1:6 000,鼠抗(M)稀释比例 1:5 000,孵育结束,1 \times TBST 洗 3 次,每次 15 min。最后 ECL 显色曝光。

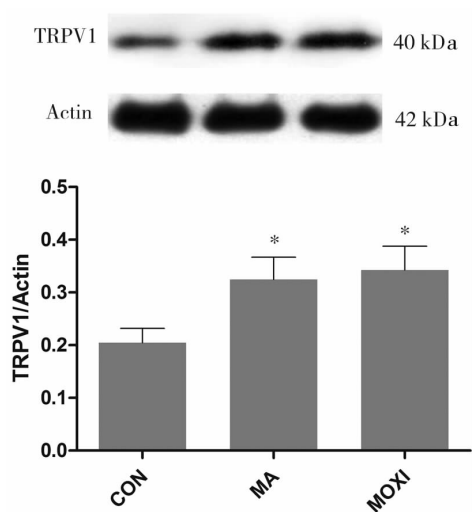
1.7 统计学方法

统计学数据分析采用 SPSS 24.0 统计软件。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,先进行正态性检验与方差齐性检验:满足正态性,使用单因素方差分析进行组间比较,方差齐用 LSD 法,方差不齐用 Dunnett T3 法;若正态性不满足,则选择秩和检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 C57BL/6 小鼠针刺与热灸前后前额叶皮质 TRPV1 表达变化

与 C57BL/6 空白组相比,C57BL/6 小鼠针刺组与热灸组前额叶皮质 TRPV1 表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$),但针刺组和热灸组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 1。

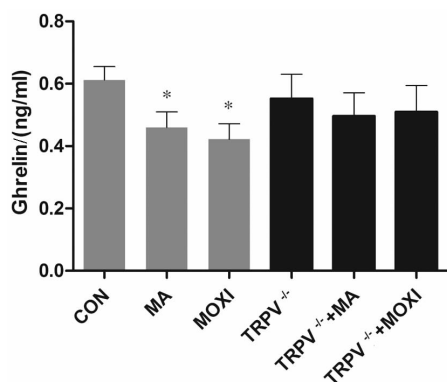


注:CON. C57BL/6 空白组;MA. C57BL/6 针刺组;MOXI. C57BL/6 热灸组。与 CON 比较,* $P<0.05$

图1 针刺与热灸前后 C57BL/6 小鼠前额叶皮层 TRPV1 表达变化

2.2 C57BL/6 和 TRPV1^{-/-}小鼠针刺与热灸前后血浆 ghrelin 水平变化

与 C57BL/6 空白组相比,C57BL/6 针刺组与热灸组血浆 ghrelin 水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$),但针刺组和热灸组对比差异无统计学意义($P>0.05$)。与 TRPV1^{-/-}空白组对比,TRPV1^{-/-}针刺组和热灸组血浆 ghrelin 水平差异无统计学意义($P>0.05$);针刺组和热灸组对比差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 2。



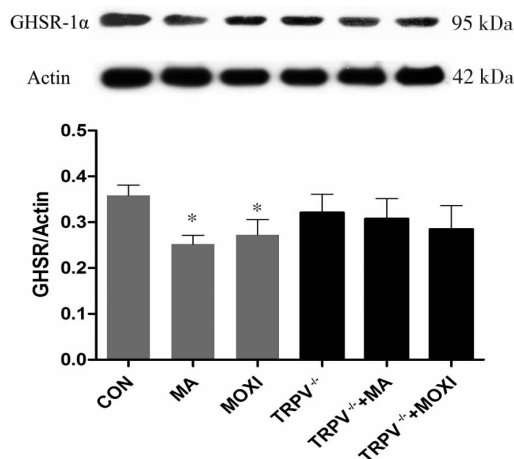
注:CON. C57BL/6 空白组;MA. C57BL/6 针刺组;MOXI. C57BL/6 热灸组;TRPV1^{-/-}. TRPV1^{-/-}空白组;TRPV1^{-/-}+MA. TRPV1^{-/-}针刺组;TRPV1^{-/-}+MOXI. TRPV1^{-/-}热灸组。与 CON 比较,* $P<0.05$

图2 针刺与热灸前后 C57BL/6 小鼠、TRPV1 基因敲除小鼠血浆 ghrelin 水平变化

2.3 C57BL/6 和 TRPV1^{-/-}小鼠针刺与热灸前后前额叶皮层 GHSR-1 α 表达变化

与 C57BL/6 空白组相比,C57BL/6 针刺组与热灸组前额叶皮层 GHSR-1 α 表达水平显著降低,差

异有统计学意义($P<0.05$),但针刺组和热灸组之间差异无统计学意义($P>0.05$);与 TRPV1^{-/-}空白组对比,TRPV1^{-/-}针刺组和热灸组前额叶皮层 GHSR-1 α 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 3。



注:CON. C57BL/6 空白组;MA. C57BL/6 针刺组;MOXI. C57BL/6 热灸组;TRPV1^{-/-}. TRPV1^{-/-}空白组;TRPV1^{-/-}+MA. TRPV1^{-/-}针刺组;TRPV1^{-/-}+MOXI. TRPV1^{-/-}热灸组。与 CON 比较,* $P<0.05$

图3 针刺与热灸前后 C57BL/6 小鼠、TRPV1 基因敲除小鼠前额叶皮层 GHSR-1 α 表达变化

3 讨论

足三里穴具有调理中焦胃肠气血之功效,是针灸防治胃肠疾病的首选腧穴。针灸足三里穴可使中焦气血充足、胃肠腐熟水谷和传化糟粕的功能稳定。《灵枢·五邪第二十》中有记载:“邪在脾胃……阳气有余,阴气不足,则热中善肌;阳气不足,阴气有余,则肠中寒鸣腹痛;阴阳俱有余,若俱不足,则有寒有热,皆调于三里。”《外台秘要·水病杂疗方》言:“又水腹胀皮肿法,灸三里。”《席弘赋·璇玑三里消食方》曰:“胃中有积刺璇玑,三里功多人不知。”通过挖掘文献发现,针灸足三里可调治胃肠诸证,且具有其他穴位不可替代的优势^[14-16]。

近年来,无论是临床还是基础研究^[17-19]均表明,针灸治疗胃肠疾病效果显著,其作用机制主要是通过中枢神经系统和靶器官交互响应,激活脑肠轴实现脑肠互通,增强胃肠动力、调节胃酸分泌、促进胃肠激素释放、介导免疫炎症反应、改善机体代谢、协调肠道菌群来保持胃肠屏障完整而到达防治作用。连林雨等^[20]研究发现,电针可加速应激性胃溃疡大鼠胃黏膜损伤修复过程,而这可能与胃黏膜损伤大鼠 ghrelin 含量的改变密切相关。李琳慧等^[21]实验

证实,热敏灸可调节下丘脑和海马组织中 ghrelin 和 GHSR-1 α 蛋白表达,来改善慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜损伤。所以说针灸足三里对胃肠疾病的防治作用,主要是影响了胃肠和中枢神经系统中 ghrelin 及其受体分泌,互通脑肠信号,继而发挥整体调节胃肠运动和胃黏膜屏障完整的作用。

Ghrelin 主要是由胃底黏膜的 X/A 样细胞分泌,最早在胃肠道中被发现,随后在胰腺、甲状腺、肝脏等器官和大脑皮质、下丘脑、脑干等脑组织中被提取^[22-23]。Ghrelin 是一种多功能脑肠肽激素,并具有多种生物学活性,而对胃肠疾病影响的研究最为广泛^[24]。通过多方位实验探索发现,ghrelin 在胃肠疾病的防治中主要是通过改善胃肠动力、调节胃肠激素分泌、加速胃黏膜损伤修复等方面实现对胃肠疾病的防治作用^[25-26]。而其生物学效应得以充分发挥与其受体 GHSR-1 α 密不可分。GHSR-1 α 是 G 蛋白偶联受体,在中枢与外周组织器官中均有分布^[27]。Ghrelin 先由胃底黏膜细胞分泌,一部分在外周与受体结合,发挥作用;另一部分通过血液循环,穿透血脑屏障,在高位中枢系统中发挥生物学效应,让外周与中枢同时响应,是实现脑肠互通的重要途径^[28]。针灸可通过对穴位的干预而激活外周和中枢通路共同参与胃肠功能的调控,刘未艾^[29]、吴颖琪^[30]、唐雷^[31]等均通过实验发现,这与调节 ghrelin 分泌而影响其受体蛋白表达相关。本实验通过对比针刺与热敏灸足三里穴区小鼠血浆 ghrelin 和前额叶皮质 GHSR-1 α 含量表达,发现针刺和热敏灸均可降低小鼠 ghrelin 及其受体蛋白含量,证实针刺、热敏灸对胃肠功能的调整均与 ghrelin-GHSR-1 α 这一途径关系密切。

TRPV1 又称瞬时受体电位香草酸亚型 1,属于离子通道 TRP 家族成员,分布于外周和中枢感觉神经纤维中,具有感知机械、物理和化学等刺激的特点,它是神经系统中具有整合多种伤害性刺激的感受器,可介导多种疼痛,如炎性痛、热痛和慢性疼痛等^[32-33]。参与机体炎症和免疫反应的过程,TRPV1 与胃肠疾病的发生、发展和调节作用关系密切^[34]。TRPV1 异常分泌和表达可导致胃溃疡、肠易激综合征和胃肠道癌等胃肠道疾病发生。刘琼^[35]、张晓卓^[36]、李凯歌^[37]等通过实验发现,针灸可改善 TRPV1 异常表达,从胃黏膜修复、胃酸分泌调节、促胃肠动力等

方面参与胃肠疾病的防治过程。本研究发现针刺、热敏灸可促使小鼠前额叶皮质中 TRPV1 的释放,而 TRPV1 基因被敲除后,针刺、热敏灸后小鼠血浆 ghrelin 及前额叶皮质 GHSR-1 α 的含量表达均无明显改变。所以说 TRPV1 表达的改变可对胃肠功能调控通路 ghrelin-GHSR-1 α 这一途径产生影响。

本研究通过实验验证了针刺、热敏灸均可影响 TRPV1 和 ghrelin 及其受体的表达,且 ghrelin-GHSR-1 α 途径的激活与 TRPV1 释放与否关系密切。但针灸对胃肠疾病防治的作用机制复杂,而本实验仅观察小鼠在生理状态下针刺、热敏灸作用机制的差异,存在一定局限性,故针刺、热敏灸对胃肠疾病模型小鼠作用机制的差异性有待进一步研究。

参考文献

- [1] 孙月华,李宛平,黄茂建中汤联合针灸对虚寒型胃脘痛患者胃肠激素及 TNF- α 、hs-CRP 水平的影响[J].光明中医,2021,36(6):889-891.
- [2] 黄金,孙宁,张娜,等.不同针灸疗法治疗术后肠麻痹的临床研究进展[J].时珍国医国药,2020,31(9):2223-2225.
- [3] 王文炎,梁凤霞,陈瑞.针灸调节胃肠动力机制的研究进展与思考[J].针刺研究,2020,45(9):771-775.
- [4] 刘利,檀晓东,宋昱惠,等.针灸治疗慢性功能性便秘的安全性及有效性评价[J].辽宁中医杂志,2021,48(3):159-162.
- [5] GUO Y, WEI W, CHEN J D. Effects and mechanisms of acupuncture and electroacupuncture for functional dyspepsia: A systematic review[J]. World Journal of Gastroenterol, 2020, 26(19): 2440-2457.
- [6] NOGUCHI E. Acupuncture regulates gut motility and secretion via nerve reflexes[J]. Autonomic Neuroscience Basic And Clinical, 2010, 156(1-2): 15-18.
- [7] KOJIMA M, HOSODA H, DATE Y, et al Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach[J]. Nature, 1999, 402(6762): 656-660.
- [8] BAEK J Y, TRINH T A, HUH W, et al. Electro-Acupuncture Alleviates Cisplatin-Induced Anorexia in Rats by Modulating Ghrelin and Monoamine Neurotransmitters[J]. Biomolecules, 2019, 9(10): 624.
- [9] JANG J H, LEE D J, BAE C H, et al. Changes in small intestinal motility and related hormones by acupuncture stimulation at Zusanli (ST36) in mice[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2017, 23(3): 215-220.
- [10] TANG L, ZENG Y, LI L, et al. Electroacupuncture Upregulated Ghrelin in Rats with Functional Dyspepsia via AMPK/TSC2/

- Rheb-Mediated mTOR Inhibition[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2020, 65(6): 1689-1699.
- [11] MAO Y, LI Z, CHEN K, et al. Antinociceptive Effect of Ghrelin in a Rat Model of Irritable Bowel Syndrome Involves TRPV1/Opioid Systems[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(2): 518-530.
- [12] WANG S J, YANG H Y, XU G S. Acupuncture Alleviates Colorectal Hypersensitivity and Correlates with the Regulatory Mechanism of TrpV1 and p-ERK[J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 10(1155): 483123.
- [13] 李忠仁.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2007:311-314.
- [14] 陈坚义,唐宏图,王 华,等.探议足三里[J].*中医学报*,2020,35(12): 2521-2524.
- [15] 王宽宇,何岩涛,孔祥定,等.基于“肚腹三里留”理论探析足三里穴治疗术后胃肠功能紊乱的研究进展[J].*针灸临床杂志*,2019,35(10):98-101.
- [16] 揭丽桦,谢 煜,徐振华.《针灸大成》足三里穴的临床应用规律探析[J].*环球中医药*,2018,11(9):1398-1401.
- [17] WANG S J, YANG H Y, WANG F, et al. Acupoint Specificity on Colorectal Hypersensitivity Alleviated by Acupuncture and the Correlation with the Brain-Gut Axis[J]. *Neurochem Research*, 2015, 40(6): 1274-82.
- [18] YAKLAI K, PATTANAKUHAR S, CHATTIPAKOM N, et al. The Role of Acupuncture on the Gut-Brain-Microbiota Axis in Irritable Bowel Syndrome[J]. *American Journal of Chinese Medicine*, 2021, 49(2): 285-314.
- [19] FANG J, WANG D, ZHAN Q, et al. Brain-Gut Axis Modulation of Acupuncture in Functional Dyspepsia:A Preliminary Resting-State fMRI Study[J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 10(1155): 860463.
- [20] 连林宇,沈佳成,何其达,等.电针对胃黏膜损伤大鼠胃黏膜组织饥饿素与生存素动态表达的影响[J].*中华中医药杂志*,2020,35(1): 141-145.
- [21] 李琳慧,付 勇,熊 俊,等.热敏灸对慢性萎缩性胃炎大鼠 Ghrelin 及 GHSR 的影响[J].*中华中医药杂志*,2020,35(11):5480-5485.
- [22] MIHALACHE L, ARHIRE L I, GIUSCA S E, et al. Ghrelin-producing cells distribution in the stomach and the relation with *Helicobacter pylori* in obese patients[J]. *Romanian journal of morphology and embryology*, 2019, 60(1): 219-225.
- [23] 杨 垚,王玉珍.促生长激素释放素在功能性消化不良中的研究进展[J].*消化肿瘤杂志*,2021,13(1):21-24.
- [24] TASI C, MILANI S. Functions of Ghrelin in Brain, Gut and Livers[J]. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets*, 2016, 15(8): 956-963.
- [25] CHEN C Y, ASAKAWA A, FUJIMIYA M, et al. Ghrelin gene products and the regulation of food intake and gut motility[J]. *Pharmacol Reviews*, 2009, 61(4): 430-81.
- [26] ENGLANDER E W, GOMEZ G A, GREELEY G H Jr. Alterations in stomach ghrelin production and in ghrelin-induced growth hormone secretion in the aged rat[J]. *Mechanisms of ageing and development*, 2004, 125(12): 871-885.
- [27] HUANG J, LIU W, DOUCHEVA D M, et al. Ghrelin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis via GHSR-1 α /AMPK/Sirt1/PGC-1 α /UCP2 pathway in a rat model of neonatal HIE[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2019, 141: 322-337.
- [28] 翁霞霞,陈朝元.Ghrelin 在胃肠道中的作用及其与功能性消化不良的相关性研究[J].*中国现代医药杂志*,2020,22(2):94-97.
- [29] 刘未艾.从脑肠轴途径探讨隔药饼灸对 FGIDs 肝郁脾虚模型大鼠胃肠动力障碍和感觉异常影响的作用机制[D].长沙:湖南中医药大学,2013.
- [30] 吴颖琦.针刺“关元”“下巨虚”对应激性溃疡模型大鼠 Ghrelin、IL-1 β 和 IL-4 的影响[D].北京:北京中医药大学,2020:11-54.
- [31] 唐 雷.电针通过 AMPK 调节功能性消化不良大鼠 Ghrelin 的机制研究[D].武汉:湖北中医药大学,2019:58-153.
- [32] JOSEPH J, QU L, WANG S, et al. Phosphorylation of TRPV1 S801 Contributes to Modality-Specific Hyperalgesia in Mice[J]. *Journal of Neuroscience*, 2019, 39(50): 9954-9966.
- [33] BUJAK J K, KOSMALA D, SZOPA I M, et al. Inflammation Cancer and Immunity-Implication of TRPV1 Channel[J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9: 1087.
- [34] 陈 颖,赵 妍,王 路,等.TRP 的磷酸肌醇、辣椒素受体在针刺缓解腹泻型肠易激综合征大鼠内脏高敏感中的作用[J].*针刺研究*.2021,46(4):278-283.
- [35] 刘 琼.TRPV1 参与针、灸不同刺激方法对小鼠穴区局部效应和胃运动调节中枢响应差异的研究[D].长沙:湖南中医药大学,2018.
- [36] 张晓卓.结肠 TRPV1/CaMK II 信号介导电针足三里对 IBS 内脏痛小鼠调节作用的研究[D].上海:上海中医药大学,2019:10-79.
- [37] 李凯歌,郭孟玮,谭莉华,等.比较电针“大肠俞”“天枢”穴对肠易激综合征模型大鼠内脏敏感性、Cajal 间质细胞和辣椒素受体 1 的影响[J].*中国针灸*,2018,38(6):625-629.