

·针灸推拿·

本文引用:潘江,曹洋,陈成,李赛群,章薇.电针心经/心包经穴对MCAO/R大鼠MeCP2磷酸化影响的研究[J].湖南中医药大学学报,2022,42(11):1884-1890.

电针心经/心包经穴对MCAO/R大鼠MeCP2磷酸化影响的研究

潘江¹,曹洋^{1,2},陈成¹,李赛群¹,章薇^{1*}

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208)

〔摘要〕目的 观察电针心经/心包经穴对 中动脉先闭塞再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)大鼠神经功能缺损、脑梗死体积、脑组织中甲基化 CpG 结合蛋白 2(methyl CpG binding protein 2, MeCP2)磷酸化修饰状态的影响。方法 雄性 SD 大鼠随机分为正常组 40 只、假手术组 40 只、造模组 120 只。造模组采用改良颈外动脉插入线栓法建立 MCAO/R 模型,假手术组予以血管分离后不插线缝合。将造模组造模成功的大鼠再次随机分为模型组、心经穴组、心包经穴组,每组 40 只。再将各组分分为 1 d、7 d、14 d、21 d 亚组,每亚组 10 只。正常组、假手术组和模型组捆绑处理,不予电针;心包经穴组和心经穴组进行电针治疗,每次 30 min,1 次/d。观察大鼠神经功能缺损评分及脑梗死体积的变化,采用 RT-PCR 检测脑缺血组织中 MeCP2 mRNA 的表达,采用 Western blot 检测脑缺血组织中 MeCP2、pMeCP2 的蛋白表达。结果 与模型组相比:心经穴组大鼠在 7 d 时 MeCP2 蛋白表达增高($P<0.05$),在 14 d、21 d 神经功能缺损评分、MeCP2 mRNA 均降低($P<0.05$);心包经穴组大鼠在 7 d、14 d、21 d 神经功能缺损评分、MeCP2 mRNA 均降低($P<0.05$),在 7 d 时 MeCP2 蛋白表达增高,在 21 d 时 MeCP2 蛋白表达降低($P<0.05$);心经穴组、心包经穴组在 7 d、14 d、21 d 的 pMeCP2 蛋白表达均增高($P<0.05$)。与心经穴组相比:心包经穴组的 MeCP2 mRNA 在 14 d 时增高、在 21 d 时降低($P<0.05$),MeCP2 蛋白表达在 7 d 时增高($P<0.05$)。在改善神经功能缺损评分及 pMeCP2 蛋白的表达方面,心经穴组、心包经穴组效应相当($P>0.05$)。结论 电针心经/心包经穴可改善脑缺血大鼠神经功能缺损症状,促进 MeCP2 磷酸化,在作用时间及作用持续性方面两经具有一定的经穴特异性。

〔关键词〕 脑缺血;电针;中动脉先闭塞再灌注;甲基化 CpG 结合蛋白 2;心经;心包经

〔中图分类号〕R245.9

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.11.018

Effects of electroacupuncture at heart/pericardium meridian points on the MeCP2 phosphorylation in MCAO/R rats

PAN Jiang¹, CAO Yang^{1,2}, CHEN Cheng¹, LI Saiqun¹, ZHANG Wei^{1*}

(1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To observe the effects of electroacupuncture at the heart/pericardium meridians on the neurological function impairment, cerebral infarction volume, and phosphorylation of methylated CpG binding protein 2 (MeCP2) in brain tissues of middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) rats. **Methods** Male SD rats were randomly divided into normal group (40

〔收稿日期〕2022-02-07

〔基金项目〕国家自然科学基金项目(82105002,81473754);湖南省卫生健康委员会科研项目(B202319018273)。

〔第一作者〕潘江,男,博士,副主任医师,研究方向:针灸治病机理与临床研究。

〔通信作者〕*章薇,女,博士,教授,主任医师,博士研究生导师,E-mail:507395550@qq.com。

rats), sham operation group (40 rats) and modeling group (120 rats). The MCAO/R model was established in the model group by the modified method of inserting thread into the external carotid artery. The sham operation group was treated with vascular separation without suture. The rats with successful modeling were then randomly divided into model group, heart meridian point group and pericardium meridian point group, with 40 rats in each group. Each group was then divided into 1 d, 7 d, 14 d and 21 d subgroups, with 10 rats in each subgroup. The normal group, the sham operation group and the model group were treated by binding without electroacupuncture; the pericardium meridian point group and the heart meridian point group were treated with electroacupuncture for 30 min each time, once a day. Changes of neurological function impairment score and cerebral infarction volume in rats were observed; the expression of MeCP2 mRNA in cerebral ischemic tissues was detected by qPCR, and the expression of MeCP2 and pMeCP2 proteins in cerebral ischemic tissues was detected by Western blot. **Results** Compared with the model group, the expression of MeCP2 protein in the heart meridian point group increased on the 7 d ($P<0.05$), and the score of neural function defect and MeCP2 mRNA decreased at 14 d, 21 d ($P<0.05$). The score of neural function defect and MeCP2 mRNA in the pericardium meridian group decreased at 7 d, 14 d and 21 d ($P<0.05$); the expression of MeCP2 protein increased on the 7 d, and the expression of MeCP2 protein decreased on the 21d ($P<0.05$). The expression of pMeCP2 protein in the heart meridian point group and pericardium meridian group increased at 7 d, 14 d and 21 d ($P<0.05$). Compared with the heart meridian point group, the MeCP2 mRNA in the pericardium meridian group increased on the 14 d, decreased on the 21 d ($P<0.05$), and the MeCP2 protein expression increased on the 7 d ($P<0.05$). The heart meridian point group and pericardium meridian group had similar effects in improving the neurological deficit score and the expression of pMeCP2 protein ($P>0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture at the heart meridian/pericardium meridian points could improve the symptoms of neurological function impairment in rats with cerebral ischemia, and promote MeCP2 phosphorylation. Certain specificity is shown in two meridians as to the action time and duration.

[**Keywords**] cerebral ischemia; electroacupuncture; middle cerebral artery occlusion/reperfusion; methyl CpG binding protein 2; heart meridian; pericardium meridian

脑缺血损伤后神经功能的重建与修复一直以来都是医学领域的研究热点^[1],其中突触可塑性是脑缺血损伤后康复的主要机制之一^[2]。DNA 甲基化通过甲基化 CpG 结合蛋白 2(methyl CpG binding protein 2, MeCP2)磷酸化修饰途径调控目标基因的表达变化,在神经干细胞的自我更新、分化、可塑性调节中发挥关键作用^[3]。相关研究证实,MeCP2 磷酸化修饰及其信号途径参与了脑缺血损伤后神经细胞的分化与调节^[4]。针刺作为脑缺血疾病的一种重要的防治手段,被广泛应用于脑缺血疾病的不同临床时期,并取得了良好的疗效^[5-8]。本课题组前期研究发现,电针心经/心包经穴可以诱导神经营养因子(nerve growth factor, NGF)的释放^[9],但其效应过程尚不明确。根据 MeCP2 磷酸化修饰途径在诱导神经细胞特异性基因表达,促进 NGF 释放、树突发生和棘突成熟等方面发挥的重要作用^[10]。本研究通过观察电针心经/心包经穴对中动脉先闭塞再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)大鼠神经功能缺损以及脑组织中 MeCP2 磷酸化修饰变化的影响,验证电针心经/心包经穴改善脑缺血损伤的作用与 MeCP2 磷酸化修饰途径密切相关,为

“从心治脑”以及经穴特异性提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康雄性 SPF 级 SD 大鼠 200 只,体质量 250~350 g,由湖南中医药大学实验动物中心提供,合格证号为 SCXK(湘)2016-0002。所有动物均在 SPF 级动物房喂养,自由摄食与饮水,饲养温度为 20~25 ℃,湿度为 40%~60%。本实验所有操作都通过了湖南中医药大学动物实验伦理要求(伦理审批号:ZYFY20160513),并严格遵照中华人民共和国科技部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》中有关动物的使用及伦理学规定。

运用随机数字表法将 200 只大鼠分为正常组(40 只)、假手术组(40 只)、造模组(120 只)。造模后随机将 120 只造模组大鼠分为模型组、心经穴组、心包经穴组,每组 40 只;再随机将各组分为 1 d、7 d、14 d、21 d 亚组,每亚组 10 只。

1.2 主要仪器和试剂

SDZ-II 华佗电针治疗仪、华佗牌针灸针 0.16 mm×13 mm(苏州医疗用品厂有限公司);ABI 7500 定量

PCR 仪(美国 ABI 公司);DYY-6C 电泳仪(北京六一仪器公司);蛋白电泳及转膜设备(美国 Bio-Rad 公司);实时荧光定量 PCR 仪(7500Fast, 美国 Perkin Elmer 公司);J2-21 高速离心机、J6-HC 离心机(美国 Beckman 公司);凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司);DU 80 紫外分光光度计(美国 Beckman 公司);定量 PCR 试剂盒(广州复能基因有限公司);BCA 蛋白定量检测试剂盒(上海东寰生物科技)。

1.3 大鼠 MCAO/R 模型的建立

采用大鼠大脑中动脉先闭塞再灌注法^[11]构建 MCAO/R 模型。造模后 2 h 大鼠完全苏醒后参照 Longa 评分法^[12]对大鼠神经缺损进行评分:无偏瘫及神经功能缺损为 0 分;梗死对侧前爪屈曲、伸直障碍为 1 分;向偏瘫侧转圈追尾为 2 分;爬行时向偏瘫侧倾倒入为 3 分;意识丧失、不能行走为 4 分。将评分为 1~3 分大鼠视为造模成功,纳入实验观察。实验过程中,线栓未能成功插入及死亡大鼠 2 只,将其进行剔除,所有剔除大鼠按实验要求进行随机补充。

1.4 干预方法

正常组:捆绑处理,不予电针;假手术组:血管分离后不插线缝合,捆绑处理,不予电针;模型组:MCAO/R,捆绑处理,不予电针;心经穴组:MCAO/R+电针心经穴;心包经穴组:MCAO/R+电针心包经穴。

电针方法:根据 2010 版《实验针灸学》^[13]确定腧穴位置,按照经脉“胸走手”的循行方向,选取瘫痪侧肢体不同节段常用穴位,心包经组取天泉、曲泽、内关、大陵为代表穴,心经穴组取极泉、少海、灵道、神门为代表穴。大鼠造模成功后第 2 天开始针灸治疗,15 mm,36 号一次性无菌针灸针刺入上述穴位 3 mm 左右后,分别连接电针仪的输出端,予以电针刺激。电针连接方式:心包经穴组曲泽与天泉相连,大陵与内关相连;心经穴组极泉与少海相连,灵道与神门相连。电针刺激参数为连续波、20 Hz,强度以大鼠上肢轻微抖动为度,每次 30 min,每日 1 次。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 大鼠神经功能缺损评分 各组治疗完成后第 2 天采用改良神经功能缺损评分^[14-15]评估电针对大鼠神经功能恢复的影响。总分为 18 分,分值越高,神经功能损伤程度越重。

1.5.2 大鼠脑梗死体积百分比测定 将标本放入脑槽中做冠状切片,4 刀将大鼠脑分为 5 片。第 1 刀于脑前极和视交叉连线的中点,第 2 刀于大脑视交叉处,第 3 刀于漏斗柄处,第 4 刀于漏斗柄与尾极之间,每片厚约 2 mm。将脑片放入 2% TTC 磷酸缓冲液中进行染色,37 °C 避光恒温箱孵育 30 min,正常脑组织为红色,而梗死部位呈白色。染色后进行拍照处理,并采用多媒体彩色病理图象分析系统测量每片的面积和梗死灶面积,然后乘以片厚(2 mm),即每片体积和梗死灶体积,脑梗死体积百分比即为梗死区体积与正常侧大脑半球体积的比值,再进行统计分析^[16]。

1.5.3 大鼠海马区 MeCP2 mRNA 表达的检测 取 -80 °C 冻存的组织标本 30 mg 于装有液氮中的研钵中研磨成粉末。采用 Trizol-离心柱法提取总 RNA,测定 RNA 纯度,计算 RNA 溶液浓度,判断 RNA 提取质量,则可以满足后续 RT-PCR 所需。将提取到的总 RNA 反转录后得到 cDNA,-20 °C 保存。利用实时荧光定量 PCR 试剂盒配置扩增体系,标准实时 PCR 反应体积为 20 μL,实时 PCR 条件为 95 °C 1.5 min。95 °C 15 s,60 °C 25 s,72 °C 30 s,以上 3 步骤进行 40 个循环。以 beta-actin 用作对照。引物由广州复能基因有限公司合成,引物序列见表 1。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析数据。

表 1 引物序列

引物名称	序列(扩增片段)	产物长度/bp
MeCP2	正向:5'-AACCACTACAGCCTTCAGCC-3'	95
	反向:5'-CATCCAGCGCACCTCTTTAGG-3'	
beta-actin	正向:5'-TCTCTGCTCCTCCCTGTCT-3'	150
	反向:5'-TACGGCCAAATCCGTTTACA-3'	

1.5.4 大鼠 MCAO 大鼠海马区 MeCP2、PMeCP2 蛋白表达的检测 取 -80 °C 冰箱冻存的组织标本 100 mg 于装有液氮中的研钵中研磨成粉末。加入 RIPA 裂解,采用 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。将蛋白样品和 maker 加入上样孔,通过凝胶电泳制备样品并电转移到聚偏二氟乙烯膜上。在含有 5% 无脂乳的 PBS 中封闭 1 h 后,加入一抗 GAPDH(1:1000)、MeCP2(1:1000)、pMeCP2(1:1000)24 °C 摇床过夜。

隔天洗膜后加入二抗 Rabbit-HRP(1:8000)室温孵育 2 h,洗膜后,放入化学发光凝胶成像系统曝光,采用 Image J 图像分析处理系统将扫描后的图像进行灰度分析,以目的蛋白条带与 beta-actin 条带灰度值的比作为目的蛋白的相对表达量。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析。计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,资料满足正态分布,多组间比较采用方差分析;不满足正态分布和方差齐性时采用 Wilcoxon 秩和检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠神经功能缺损评分的比较

与正常组及假手术组比,模型组、心经穴组、心包经穴组神经功能缺损在 1 d、7 d、14 d、21 d 的评分明显升高($P<0.01$),提示造模成功。与模型组比,心经穴组在 14 d、21 d 的评分明显降低($P<0.01$);

心包经穴组在 7 d、14 d 的评分降低($P<0.05$),21 d 的评分也显著降低($P<0.01$)。心经穴组、心包经穴组两组之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 2。

2.2 各组大鼠脑梗死体积百分比的比较

与正常组、假手术组比较,模型组、心经穴组、心包经穴组在 1 d、7 d、14 d、21 d 的脑梗死体积百分比均明显升高($P<0.01$),说明造模成功。模型组、心经穴组、心包经穴组脑梗死体积百分比各组组间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 3。

2.3 各组大鼠海马区 MeCP2 mRNA 表达的比较

与正常组及假手术组比较,模型组、心经穴组、心包经穴组在 7 d、14 d、21 d 的 MeCP2 mRNA 表达均升高($P<0.01$);与模型组比较,心经穴组在 14 d、21 d 的 MeCP2 mRNA 均下降($P<0.01$);心包经穴组在 7 d、14 d、21 d 的 MeCP2 mRNA 表达下降($P<0.05, P<0.01$)。与心经穴组比较,心包经穴组在 14 d 时高于心经穴组($P<0.05$),在 21 d 时低于心经穴组($P<0.05$)。详见表 4。

表 2 各组大鼠神经功能缺损评分的比较($\bar{x}\pm s$,分, $n=10$)

组别	1 d	7 d	14 d	21 d
正常组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
假手术组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
模型组	7.50±0.81***●●	7.10±0.82***●●	6.70±0.99***●●	6.10±0.85***●●
心经穴组	7.40±0.51***●●	6.70±0.45***●●	5.30±1.27***●●▲▲	4.80±0.73***●●▲▲
心包经穴组	7.50±0.62***●●	6.50±0.68***●●▲	5.70±1.35***●●▲	4.60±0.67***●●▲▲

注:与正常组比较,*** $P<0.01$;与假手术组比较,●● $P<0.01$;与模型组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$ 。

表 3 各组大鼠脑梗死体积百分比($\bar{x}\pm s$,%, $n=3$)

组别	1 d	7 d	14 d	21 d
正常组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
假手术组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
模型组	21.14±2.05***●●	21.18±3.04***●●	20.15±3.61***●●	19.67±5.10***●●
心经穴组	20.35±2.16***●●	20.75±2.38***●●	20.54±3.67***●●	19.84±4.76***●●
心包经穴组	21.23±3.08***●●	21.41±3.76***●●	20.17±4.54***●●	20.36±6.13***●●

注:与正常组比较,*** $P<0.01$ 。与假手术组比较,●● $P<0.01$ 。

表 4 各组大鼠海马区 MeCP2 mRNA 表达的比较($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	1 d	7 d	14 d	21 d
正常组	1.00±0.02	1.00±0.01	1.00±0.00	1.00±0.01
假手术组	1.33±0.90	5.31±3.05	4.81±2.27	1.91±0.96
模型组	1.44±1.17	27.65±12.06***●●	26.89±6.43***●●	21.37±1.26***●●
心经穴组	1.40±1.12	23.79±11.35***●●	13.76±2.96***●●▲▲	11.43±5.22***●●▲▲
心包经穴组	1.92±1.79	21.93±14.38***●●▲	16.48±3.00***●●▲▲◇	5.94±3.01***●●▲▲◇

注:与正常组比较,*** $P<0.01$;与假手术组比较,●● $P<0.01$;与模型组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;与心经穴组比较,◇ $P<0.05$ 。

2.4 各组大鼠海马区 MeCP2、pMeCP2 蛋白表达的比较

与正常组及假手术组比,模型组、心经穴组、心包经穴组在 7 d、14 d、21 d MeCP2 蛋白表达均升高($P<0.01$)。与模型组比,心经穴组在 7 d 时 MeCP2 蛋白表达增高($P<0.01$);心包经穴组 7 d 时 MeCP2 蛋白表达增高($P<0.01$),在 21 d 时降低($P<0.05$)。与心经穴组比较,心包经穴组在 7 d 时 MeCP2 蛋白表达增高($P<0.05$)。详见图 1、表 5。

与正常组及假手术组比,模型组、心经穴组、心包经穴组在 7 d、14 d、21 d 的 pMeCP2 蛋白表达均升高($P<0.01$);与模型组比,心经穴组、心包经组在 7 d、14 d、21 d 的 pMeCP2 蛋白表达升高($P<0.01$)。与心经穴组比较,心包穴经组在 7 d、14 d、21 d 的 pMeCP2 蛋白表达差异均无统计学意义($P>0.05$)。

详见图 1、表 6。

3 讨论

脑血管疾病因其高发病率、高死亡率、高致残率及高复发率等特点越来越受到人们重视^[17]。针灸疗法作为脑缺血疾病的一种重要的防治手段已被公认,其作用机制一直都是研究的热点^[18-19]。曹香玲等^[20]采用电针曲池、足三里,黄金等^[21]采用电针神庭、百会,均证实了电针的疗效。本研究干预思路源于中医经典原创理论“心主血脉、心主神明”,选取与心、脑密切相关的心经穴、心包经穴治疗脑缺血疾病,有“从心治脑”一说^[22],目前两经对比的研究报道尚少见。为更好代表经脉特异性,本研究选穴依据具有以下特点:均为腕肘肩关节或其附近的特定穴,均是本经本脏临床治疗中的常用穴,均位于肢体相同的神经节段处。本实验研究结果证实,电针心经穴与心

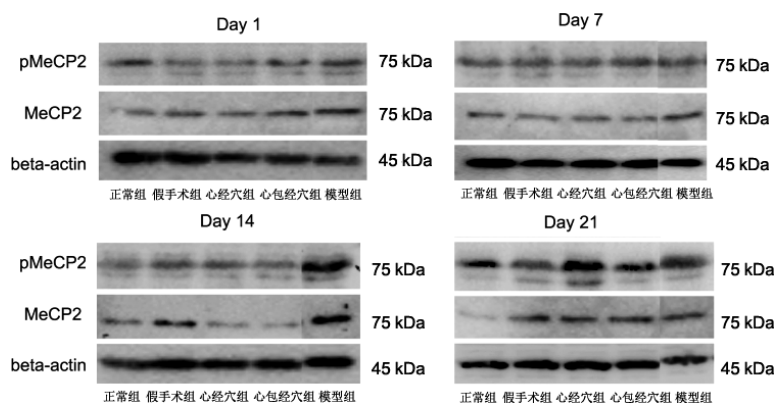


图 1 各组大鼠海马区 pMeCP2、MeCP2 蛋白条带图

表 5 各组大鼠海马区 MeCP2 蛋白表达的比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	1 d	7 d	14 d	21 d
正常组	1.00±0.01	1.00±0.02	1.00±0.01	1.00±0.03
假手术组	0.85±0.80	2.56±1.57	2.08±1.47	0.83±0.54
模型组	1.35±0.61	26.89±10.93***●●	27.58±3.02***●●	22.37±4.57***●●
心经穴组	1.86±0.59	33.09±14.72***●●▲	29.41±4.29***●●	21.25±4.66***●●
心包经穴组	1.43±0.42	45.56±10.94***●●▲◇	28.84±4.81***●●	19.06±6.73***●●▲

注:与正常组比较,*** $P<0.01$;与假手术组比较,●● $P<0.01$;与模型组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;与心经穴组比较,◇ $P<0.05$ 。

表 6 各组大鼠海马区 pMeCP2 蛋白表达的比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	1 d	7 d	14 d	21 d
正常组	1.00±0.01	1.00±0.00	1.00±0.02	1.00±0.01
假手术组	1.02±1.11	1.27±0.60	1.05±1.43	1.59±0.76
模型组	2.75±1.91	19.30±5.40***●●	12.76±3.21***●●	11.52±10.92***●●
心经穴组	2.43±1.81	28.41±5.80***●●▲▲	25.47±6.33***●●▲▲	25.24±10.31***●●▲▲
心包经穴组	2.45±1.94	29.39±4.88***●●▲▲	24.32±7.11***●●▲▲	25.16±12.23***●●▲▲

注:与正常组比较,*** $P<0.01$;与假手术组比较,●● $P<0.01$;与模型组比较,▲▲ $P<0.01$ 。

包经穴均能有效改善神经功能缺损症状,疗效确切,且其作用呈现时间效应。但是其脑梗死率改变不明显,考虑其可能与脑梗死区恢复期较长,且梗死损伤的不可逆相关。

脑缺血损伤后神经功能重建与修复是治疗该病的关键。突触可塑性理论是脑损伤后神经修复的重要学说^[2]。诸多研究证实,电针可以调节脑缺血损伤后突触结构的可塑性以及突触的功能可塑性^[223-24]。课题组前期研究发现,电针心包经穴也具有此效应^[25-26],但是其具体作用途径及机制尚不明确。MeCP2磷酸化修饰途径调控目标基因的表达,从而影响神经干细胞的分化及可塑性改变可能是其发挥作用的关键。MeCP2具有转录激活子和抑制子的双重身份,通过组蛋白乙酰化和DNA甲基化调节多个基因的表达水平^[27]。研究证实,MeCP2特异性结合甲基化DNA参与神经发育的多个阶段^[28],在神经突的形成和发育中扮演着重要角色。MeCP2对神经细胞的生物学调节作用与自身磷酸化状态(磷酸化或脱磷酸化)密切相关^[27]。李攀等^[4]发现脑缺血诱导的MeCP2磷酸化修饰及其介导的胞核-胞质转位在缺血性卒中后神经干细胞的分化调节中发挥至关重要的作用。本研究也发现,缺血损伤急性期MeCP2 mRNA、MeCP2蛋白、pMeCP2蛋白的表达增加,这一结果证实缺血损伤可诱导机体的应激反应,促使自身MeCP2磷酸化机制的产生^[29-30]。

此外,本研究发现心经穴、心包经穴电针刺刺激后,两经穴组均可在一定时间段先促进MeCP2、pMeCP2表达,加速MeCP2磷酸化的转变过程,延缓pMeCP2下降,心包经穴比心经穴可以更早(7 d)、更强(14 d、21 d)地发挥延缓MeCP2减少的作用。pMeCP2脑损伤后开始增多,7 d到达峰值后,逐步下降,而电针心经穴、心包经穴延缓其下降的作用大致相当。综上所述,本实验结果证实电针心经穴、心包经穴可以促进MeCP2磷酸化,延缓其下降过程,改善脑缺血损伤大鼠的神经功能缺损症状,两经效果大体相当。本实验结果为临床运用心经、心包经穴治疗脑缺血提供了一定的理论依据与实验基

础,但电针心经、心包经穴对MeCP2磷酸化与突触可塑性以及神经修复之间的关系,以及具体的作用机制还需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] 高家乐,姚明江,徐立,等.脑缺血后神经发生与修复及中药对其作用研究的进展[J].中国药理学通报,2021,37(3):313-317.
- [2] 孙忠人,吕晓琳,尹洪娜,等.针刺调节脑可塑性的机制研究进展[J].针刺研究,2018,43(10):674-677.
- [3] LI H Z, SHANG J Q, ZHANG C L, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation alleviates neurological deficits after cerebral ischemia through interaction between RACK1 and BDNF exon IV by the phosphorylation-dependent factor MeCP2[J]. Neurotherapeutics, 2020, 17(2): 651-663.
- [4] 李攀,周玉颖.甲基化CpG结合蛋白2参与缺血性卒中后基底节神经再生的分化调控[J].中国现代神经疾病杂志,2013,13(11): 955-960.
- [5] LI L, ZHANG H, MENG S Q, et al. An updated Meta-analysis of the efficacy and safety of acupuncture treatment for cerebral infarction[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114057.
- [6] SHEN P F, KONG L, NI L W, et al. Acupuncture intervention in ischemic stroke: A randomized controlled prospective study[J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2012, 40(4): 685-693.
- [7] 曹冰倩,谭峰.电针促进缺血性中风神经功能修复机制的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(15):2447-2450.
- [8] 史华,何琦,娄元俊,等.针刺联合康复训练对大鼠脑中动脉栓塞模型大鼠神经功能修复的作用[J].中国老年学杂志,2018,38(2): 276-278.
- [9] 马纹蕊,武娟,洒玉萍,等.电针手厥阴心包经穴对MCAO大鼠血清、脑组织中NGF和Nogo-A的影响[J].世界最新医学信息文摘, 2019,19(80):221-223.
- [10] 陈志颖,殷小平,唐洲平.内源性神经干细胞与脑出血[J].神经损伤与功能重建,2013,8(2):148-151.
- [11] 潘江,章薇,葛卫军,等.改良永久性线栓法制作大鼠脑中动脉梗死模型的探讨[J].湖南中医药大学学报,2011,31(3):24-26,44.
- [12] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [13] 张露芬.实验针灸学[M].北京:化学工业出版社,2010.
- [14] 路畅,杜肖,贺晓丽,等.小续命汤有效成分组对局灶性脑缺血/再灌注大鼠恢复早期的神经保护作用研究[J].中国药理学通

- 报,2016,32(7):938-944.
- [15] CHEN J, LI Y, WANG L, et al. Therapeutic benefit of intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats[J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2001, 189(1/2): 49-57.
- [16] 唐 三,杨筱倩,朱秋燕,等.化痰通络汤对脑缺血/再灌注大鼠“肠-脑”轴的干预作用[J].*中国实验方剂学杂志*,2021,27(18):32-41.
- [17] 梁菊萍,杨 旸,董继存.急性脑梗死患者流行病学调查及危险因素[J].*中国老年学杂志*,2021,41(12):2484-2487.
- [18] 姚书琦,易 玮,刘 荣,等.近5年电针预处理及电针治疗脑缺血大鼠的机制研究进展[J].*针刺研究*,2019,44(5):383-387.
- [19] 彭拥军,徐疏影,李忠仁,等.缺血性脑卒中后血管新生及针灸干预机制研究[J].*辽宁中医药大学学报*,2020,22(4):8-12.
- [20] 曹香玲,吴新贵,张俊川,等.电针治疗对MCAO大鼠运动功能及梗死对侧大脑皮层GAP-43、MAP-2表达的影响[J].*华中科技大学学报(医学版)*,2018,47(3):274-279.
- [21] 黄 金,李瑞青,吴明莉,等.电针神庭、百会穴对脑缺血再灌注大鼠学习记忆能力及自噬相关蛋白表达的影响[J].*中华中医药学刊*,2019,37(4):838-841,1041.
- [22] 李 里,潘 江,陈 成,等.从心脑血管生理特性相通探讨心脑血管缺血性疾病的发生机理[J].*新中医*,2015,47(11):3-5.
- [23] 宋 凯,王亚婷,熊凡捷,等.针灸调节学习记忆损伤长时程增强机制的研究进展[J].*中华中医药学刊*,2022,40(3):84-89.
- [24] 谢莉娜.电针对脑卒中肢体痉挛大鼠海马区GABA_A受体、突触可塑性相关蛋白SYN、PSD95影响的研究[D].长沙:湖南中医药大学,2019.
- [25] 谢峥嵘,肖 豆,唐雅妮,等.电针心包经穴对MCAO大鼠血清和脑组织突触素及突触后致密物-95表达的影响[J].*中国中医药信息杂志*,2021,28(1):81-85.
- [26] 谢峥嵘,肖 豆,唐雅妮,等.电针手厥阴心包经穴对大鼠中动脉栓塞模型大鼠不同时点脑组织突触素及突触后致密蛋白-95表达的影响[J].*中国中医药信息杂志*,2022,29(6):62-68.
- [27] ZHANG W J, SHI L L, ZHANG L. Dysregulated cortical synaptic plasticity under methyl-CpG binding protein 2 deficiency and its implication in motor impairments[J]. *World Journal of Psychiatry*, 2022, 12(5): 673-682.
- [28] BERNSTEIN B E, MEISSNER A, LANDER E S. The mammalian epigenome[J]. *Cell*, 2007, 128(4): 669-681.
- [29] KIRKLAND R A, SAAVEDRA G M, FRANKLIN J L. Rapid activation of antioxidant defenses by nerve growth factor suppresses reactive oxygen species during neuronal apoptosis: Evidence for a role in cytochrome c redistribution[J]. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2007, 27(42): 11315-11326.
- [30] KOHYAMA J, KOJIMA T, TAKATSUKA E, et al. Epigenetic regulation of neural cell differentiation plasticity in the adult mammalian brain [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2008, 105(46): 18012-18017.

(本文编辑 匡静之)