

本文引用:匡小霞,蒋全睿,吴琼,赖韵琦,冯祥,朱晓晴,李江山,李武.按法干预对大鼠激痛点骨骼肌细胞骨架 α -tubulin和MAP-4的影响[J].湖南中医药大学学报,2022,42(11):1891-1896.

按法干预对大鼠激痛点骨骼肌细胞骨架 α -tubulin和MAP-4的影响

匡小霞,蒋全睿,吴琼,赖韵琦,冯祥,朱晓晴,李江山*,李武*
(湖南中医药大学针灸推拿与康复学院,湖南长沙410208)

[摘要] 目的 通过观察按法干预对激痛点骨骼肌细胞骨架 α 微管蛋白(α -tubulin)和微管相关蛋白4(microtubule-associated protein 4, MAP-4)的影响,探讨按法的舒筋解结作用。**方法** 40只SPF级雄性大鼠随机分为空白组10只和激痛点造模大鼠30只,采用钝性打击结合离心运动的方法建立大鼠激痛点模型,模型评价后将符合标准的20只大鼠随机分为模型组和按法组,每组10只。空白组和模型组不予按法干预,仅正常观察,按法组以自制按法刺激器干预14d。干预结束后在激痛点局部取材,用Western blot和免疫荧光双染法检测 α -tubulin和MAP-4。**结果** α -tubulin和MAP-4在肌细胞和细胞外基质均有一定的共表达,空白组 α -tubulin和MAP-4主要分布在肌细胞膜与细胞质,分布连续性较好,模型组 α -tubulin分布连续性和完整性欠佳,在肌细胞内表达减少,在细胞外基质表达增加,MAP-4在肌细胞和细胞外基质表达均增加,两者在按法组有一定改善。与空白组相比,模型组 α -tubulin表达下降,MAP-4表达升高($P<0.05$);与模型组相比,按法组 α -tubulin表达升高,MAP-4表达下降($P<0.05$)。**结论** 按法的舒筋解结作用可能与抑制微管蛋白解聚并促进其合成有关。

[关键词] 按法;激痛点;骨骼肌;舒筋解结;细胞骨架;微管; α 微管蛋白;微管相关蛋白4

[中图分类号]R244.1 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.11.019

Effects of pressing intervention on α -tubulin and MAP-4 in skeletal muscle cytoskeleton at the myofascial trigger points in rats

KUANG Xiaoxia, JIANG Quanrui, WU Qiong, LAI Yunqi, FENG Xiang, ZHU Xiaoping, LI Jiangshan*, LI Wu*
(College of Acupuncture & Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the relaxing tendon and resolving knot effects of pressing intervention by observing the effects of pressing on α -tubulin and microtubule-associated protein 4 (MAP-4) of the skeletal muscle cytoskeleton at the myofascial trigger points (MTrPs) in rats. **Methods** Forty SPF male rats were randomly divided into the blank group of 10 rats and the MTrPs model group of 30 rats. The MTrPs modeling was established by blunt strikes combined with centrifugal movement. After model evaluation, 20 rats meeting the criteria were randomly divided into model group and pressing group, with 10 rats in each group. The blank group and the model group were not pressed and only observed normally, and the pressing group was pressed by a homemade pressing stimulator for 14 d. After intervention, local samples were taken at the MTrPs and α -tubulin and MAP-4 were detected by Western blot and immunofluorescence double-staining method. **Results** α -tubulin and MAP-4 were co-expressed in both myocytes and extracellular matrix. In the blank group, α -tubulin and MAP-4 were mainly distributed in the myocyte membrane and cytoplasm, and the distribution continuity was good. In the model group, the distribution continuity and integrity of

[收稿日期]2022-06-26

[基金项目]国家自然科学基金面上项目(8197395,82174526,82274676);湖南省自然科学基金青年项目(2021JJ40482)。

[第一作者]匡小霞,女,主治医师,博士研究生,研究方向:针灸推拿临床运用和机制研究。

[通信作者]*李江山,男,教授,博士研究生导师,E-mail:292463008@qq.com;李武,男,副教授,硕士研究生导师,E-mail:272434694@qq.com。

α -tubulin were poor, with decreased expression in myocytes and increased expression in the extracellular matrix. MAP-4 expression in the model group increased in both myocytes and extracellular matrix. Both showed some improvement in the press group. Compared with the blank group, α -tubulin expression decreased and MAP-4 expression increased in the model group ($P<0.05$); compared with the model group, α -tubulin expression increased and MAP-4 expression decreased in the pressing group ($P<0.05$).

Conclusion The relaxing tendon and resolving knot effects of pressing intervention may be related to inhibiting microtubule protein depolymerization and promoting its synthesis.

[Keywords] pressing; myofascial trigger points; skeletal muscle; relaxing tendon and resolving knot; cytoskeleton; microtubules; α -tubulin; microtubule-associated protein 4

激痛点(myofascial trigger points, MTrPs)是肌肉内高度敏感的应激点,活化后会引引起肌肉剧烈疼痛和功能障碍,还可能导致感觉异常和自主神经异常等症状,是疼痛患者就诊的常见体征^[1]。研究表明,活化 MTrPs 是常见颈肩腰腿疼痛的一个重要因素^[2],MTrPs 导致长期感觉、运动和自主神经症状,还可能诱发失眠和精神焦虑,严重影响患者工作能力和生活质量。《素问·调经论》曰:“按之则气足以温之,故快然而不痛。”临床中按法常用于各种软组织损伤,对压痛点、筋结、腧穴等进行刺激,促进损伤修复,缓解疼痛,大量临床证据均证明按法刺激对 MTrPs 具有良好的去活化作用^[3-4],根据中医基础理论可概括为舒筋解结效应。

本研究团队近年以按法对 MTrPs 去活化效应及其机制进行了系列研究工作,以期全面揭示按法舒筋解结的效应机制。研究发现,按法刺激可以有效缓解 MTrPs 疼痛,降低局部软组织张力,有效促进线粒体能量代谢和肌肉组织修复^[5-7]。在研究过程中,本研究团队发现 MTrPs 肌肉细胞存在超微结构损伤,而线粒体能量代谢和超微结构损伤两者均与细胞骨架功能密切相关^[8-9]。细胞骨架是丝状聚合物和调节蛋白的互连网络,微管是其重要组成部分,具有支撑和物质运输的作用^[10]。 α 微管蛋白(α -tubulin)是构成微管的主要蛋白之一,微管结合蛋白 4(microtubule-associated protein 4, MAP-4)附着于微管上,参与微管的组装并增加微管的稳定性。因此,本实验研究建立大鼠 MTrPs 模型,探索按法干预对微管蛋白 α -tubulin 及微管结合蛋白 MAP-4 表达的影响,以期更好地揭示按法舒筋解结的科学内涵。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

SPF 级健康 SD 大鼠 40 只,雄性,体质量 180~

200 g,由湖南中医药大学动物实验中心提供,动物许可证书:SYXK(湘)2019-0009。分笼饲养于湖南中医药大学动物中心,每笼 3 只,自由饮食、饮水。饲养环境 12 h 明/暗周期,温度 24~26 °C,湿度 50%~70%。40 只大鼠随机分为空白组 10 只和参与 MTrPs 造模大鼠 30 只。空白组不进行造模和干预操作,仅正常饲养;参与 MTrPs 造模的大鼠经过 8 周钝性打击结合离心运动处理,死亡 0 只,满足模型评价共计 24 只,随机抽取 4 只作为其他实验使用,其余 20 只大鼠以随机数表法分为模型组和按法组,每组 10 只。实验过程中对动物的处置符合《关于善待实验动物的指导性意见》^[11]相关规定,实验方案由湖南中医药大学动物实验伦理委员会批准并通过(批准编号:LL2019092506)。

1.2 主要试剂与仪器

呼吸麻醉机(型号:R500 通用型,深圳市瑞沃德生命科技有限公司);跑步机(型号:C100 型,浙江省金华市宇晟运动公司);按法刺激器与击打器(自制);多导生理记录仪(型号:MP150, BIOPAC systems),电泳仪(型号:Mini protean 3 cell, Bio-Rad Laboratories),转印槽(型号:Mini TransBlot, Bio-Rad Laboratories);全自动化学发光分析仪(型号:Tanon-520, 上海天能科技有限公司);正置荧光显微镜以及成像系统(型号:Nikon eclipse ti-sr, Ds-u3, 日本尼康株式会社);异氟烷(批号:R510-22, 深圳市瑞沃德生命科技有限公司);4%多聚甲醛溶液(批号:BL539A, Biosharp);兔来源 MAP-4 多克隆抗体(批号:AF0079, Affinity);兔来源 MAP-4 多克隆抗体(批号:A17314, Aabsci);兔来源 α -tubulin 多克隆抗体(批号:AF7010, Affinity);兔来源 GAPDH 多克隆抗体(批号:AF7021, Affinity);HRP 标记山羊抗兔鼠通用二抗(批号:K5007, DAKO);Cy3 驴抗山羊荧光二抗(批号:705-165-003, Jackson);TSA-488

(批号:PNF0512,武汉市皮诺飞生物科技有限公司); DAPI(批号:C0060,北京索莱宝科技有限公司); 抗荧光淬灭封片剂(批号:0100-1, Southbiotech); 蛋白提取液(批号:MDL91201)、蛋白酶抑制剂(批号:MD912893)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号:MD913053)均来自北京百奥思科生物医学技术有限公司。

1.3 MTrPs 模型制备与模型评价

参考文献[12-13]采用钝性打击结合离心运动的方法造模,分为处理期(8周)和恢复期(4周)。造模前,参与造模的大鼠适应性喂养1周,并在小动物跑台内进行适应性跑台训练,以练习跑台运动并减少应激反应。跑台设置坡度0°、速度16 m/min,隔天1次,每次15 min,共3次。

1.3.1 处理期(8周) 在每周第1天进行1次钝性打击,具体操作为异氟烷吸入麻醉后(诱导浓度4%),将大鼠仰卧固定于打击器底端,标记左侧大腿内侧肌,打击器的钝性木棒从20 cm高度垂直落下击打标记位置1次。第2天进行离心跑台:将小动物跑台设置在-16°下坡跑模式,速度为16 m/min,在跑台过程中通过机械刺激、声音刺激等方式驱赶大鼠,保证完成连续90 min的离心运动。其余5 d正常喂养,不作其他处理。

1.3.2 恢复期(4周) 每天正常喂养与观察,不作其他处理。

1.3.3 模型成功标准 触诊造模局部有明显紧张带或挛缩结节,触诊或电极针刺入可产生抽搐反应,肌电图出现高频自发性电活动,则说明造模成功。

1.4 按法操作

根据钝性打击点,在左侧大腿内侧肌位置先用手触摸确定紧张带或结节位置。将实验大鼠仰卧位放置固定,操作部位局部备皮,用自制的按法操作仪器^[14],按照前期研究^[15]调整好参数(力量0.7 kg、时间7.5 min、频率10次/min),在紧张带或结节位置上进行按压刺激(注:力量参数是根据按压头大小,从临床研究的2.5 kg换算成动物实验0.7 kg)。空白组和模型组不进行按法干预;按法组给予局部按法干预(参数如上述,2 d/次,一共7次,共计14 d)。

1.5 组织标本采集和处理

干预与其他检测结束后,以10%水合氯醛腹部注射麻醉并脱颈处死大鼠。用手术器械对大鼠左侧大

腿内侧肌紧张带或膨大结节区域标记处进行组织取材。将组织置于预冷生理盐水中,并用生理盐水清洗血迹,洗涤3次以上尽可能减少残留血液,滤纸吸干,标记编号后分别以-80℃冰箱或4%多聚甲醛保存。

1.6 指标检测

1.6.1 Western blot 检测 α -tubulin 和 MAP-4 蛋白

将组织样本从-80℃冰箱中取出,剪碎,加裂解液匀浆,冰浴后4℃、12 000 r/min、半径8 cm离心15 min,收集上清。BCA蛋白定量法测定总蛋白浓度。制备SDS-PAGE凝胶(10%分离胶,5%浓缩胶),上样后电泳并湿转至甲醇处理的PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭,4℃过夜;一抗:抗体加入封闭液中稀释到目标浓度,室温孵育1 h;二抗:按照1:10 000比例稀释辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗,室温孵育1 h。孵育后PBST洗涤并以化学发光显影液置于分析仪检测,截图以Image J软件读取相关条带灰度值并利用目的蛋白/甘油醛-3-磷酸脱氢酶计算相对表达量。

1.6.2 免疫荧光双染色检测 α -tubulin 和 MAP-4

将组织样本从多聚甲醛取出,常规脱水石蜡包埋并切片。切片以二甲苯和梯度酒精脱蜡至水,用柠檬酸抗原修复缓冲液(pH 6.0)在微波炉内进行抗原修复。用过氧化氢溶液和BSA封闭。加一抗:轻轻甩掉封闭液,在切片上滴加PBS按一定比例配好的一抗,切片平放于湿盒内4℃孵育过夜。加二抗:玻片置于PBS洗涤后切片稍甩干并滴加HRP的二抗,室温孵育50 min。加488-TSA:玻片置于PBS洗涤,488-TSA孵育30 min。抗原修复:用柠檬酸抗原修复缓冲液(pH 6.0)在微波炉内进行抗原修复。加第二种一抗:甩掉封闭液,在切片上滴加PBS按一定比例配好的一抗,切片平放于湿盒内4℃孵育过夜。加二抗:玻片置于PBS洗涤,稍甩干后滴加与一抗相应种属Cy3的二抗,避光室温孵育50 min。DAPI复染细胞核:玻片置于PBS洗涤,稍甩干后在圈内滴加DAPI染液,避光室温孵育10 min。封片:玻片置于PBS洗涤稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片。切片于尼康正置荧光显微镜下观察并采集图像。以Image J软件读取平均荧光强度,每个样本随机选取3个区域进行采集并计算,取均值作为其平均荧光强度数值。

1.7 统计学方法

所有数据均使用SPSS 21.0软件进行统计学分

析。计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,进行正态性、方差齐性检验。满足正态性者,组间比较采用单因素方差分析,方差齐时选择 *LSD* 法或 *SNK-Q* 法,方差不齐时选择 *Dunnnett T3* 法;不满足正态性时选择非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 MTrPs 组织 α -tubulin 和 MAP-4 免疫荧光双染结果

α -tubulin 和 MAP-4 在肌细胞和细胞外基质均有一定的共表达。空白组 α -tubulin 和 MAP-4 主要分布在肌细胞膜与细胞质,分布连续性较好;模型组 α -tubulin 分布连续性和完整性欠佳,在肌细胞内表达减少,在细胞外基质表达增加,MAP-4 在肌细胞和细胞外基质表达均增加; α -tubulin 和 MAP-4 在按法组有一定改善。与空白组相比,模型组 α -tubulin 表达下降 ($P < 0.01$),MAP-4 表达升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,按法组 α -tubulin 表达升高 ($P < 0.01$),MAP-4 表达下降 ($P < 0.01$)。详见图 1。

2.2 各组大鼠 MTrPs 组织 α -tubulin 和 MAP-4 Western blot 结果

与空白组相比,模型组 α -tubulin 表达下降 ($P <$

0.05),MAP-4 表达升高 ($P < 0.05$);与模型组相比,按法组 α -tubulin 表达升高 ($P < 0.05$),MAP-4 表达下降 ($P < 0.05$)。详见图 2。

3 讨论

根据临床特点,MTrPs 归属中医学“筋结”和“筋痹”范畴,病因病机是机体在急慢性劳损的影响下导致筋伤,气虚寒凝血瘀导致“筋挛节痛”,对此类疾病的治疗,中医常以针刺、艾灸、针刀、推拿和中药外敷等外治法为主^[16]。按法作为经典的推拿手法之一,在诸多疼痛疾病中广泛运用,但是按法对 MTrPs 去活化机制研究涉及理论多、研究难度大,是推拿领域里研究的热点和难点。目前研究表明,按法刺激 MTrPs 的去活化作用可以分为外周和中枢两部分。在中枢水平上,研究结果表明,按法刺激 MTrPs 通过前额叶皮质改变自主神经系统的活动,以减少主观疼痛^[17-18]。通常认为,在外周水平上,按法刺激可以增加局部血流量,改善代谢环境,增强局部代谢^[19]。MTrPs 的重要诱因是各种急慢性损伤(如外伤、工作相关的重复性肌肉损伤、离心运动和医源性损伤等),本团队前期研究发现,按法刺激可以有效缓解 MTrPs 疼痛,降低局部软组织张力,其机制与调节钙离子通道、增

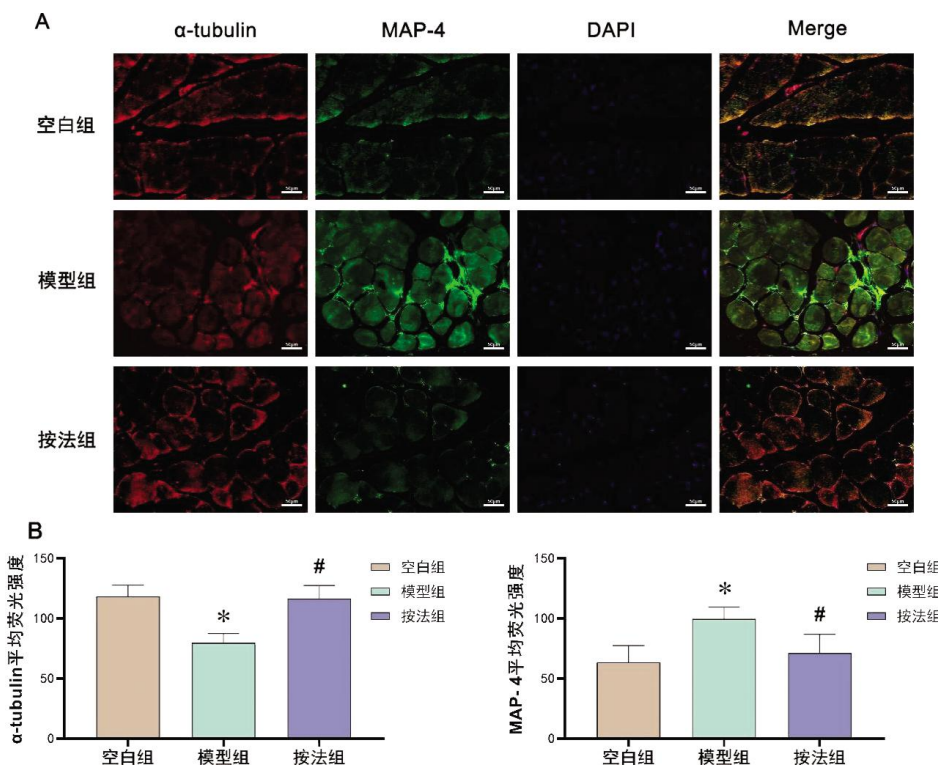


图 1 各组大鼠 MTrPs 组织 α -tubulin 和 MAP-4 免疫荧光双染

注:A.各组大鼠 α -tubulin 和 MAP-4 免疫荧光双染例图(红色= α -tubulin;绿色=MAP-4;蓝色=DAPI);B.各组大鼠 α -tubulin 和 MAP-4 平均荧光强度比较结果。与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$ 。

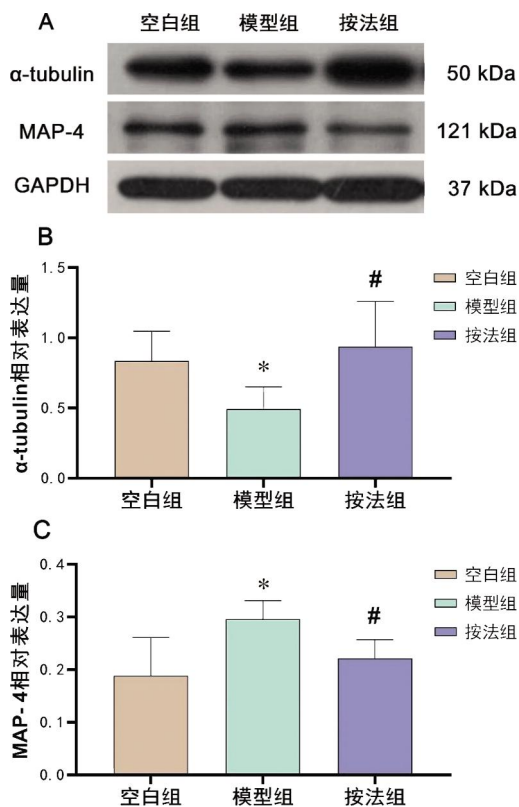


图2 各组大鼠 MTrPs 组织 α -tubulin 和 MAP-4 相对表达情况

注:A. α -tubulin 和 MAP-4 免疫印迹例图;B. α -tubulin 相对表达情况;C.MAP-4 相对表达情况。与空白组比较,* P <0.05;与模型组比较,# P <0.05。

强线粒体能量代谢、促进肌肉组织修复等环节密切相关^[5-7]。

虽然按法刺激 MTrPs 去活化效应机制研究取得了一定的进展,但是在很多方面仍存在不足。根据综合假说,MTrPs 的发生发展与运动终板(神经肌肉接头)功能异常、乙酰胆碱堆积、局部循环与能量代谢障碍、血管活性成分与炎症因子释放等多个环节组成的恶性循环有关^[1]。团队前期研究发现,MTrPs 骨骼肌细胞能量代谢下降,异常收缩,并且存在肌节不规则排列,A 带紊乱,M 线模糊甚至消失,Z 线扭曲断裂,出现水纹样变等超微结构损伤^[20]。细胞骨架是人体内环境中复杂而功能较多的结构之一,是维持细胞功能正常运作的重要环节,涉及内吞、细胞分裂、细胞内运输、运动、力传递、对外力的反应及细胞形状的适应与改变等过程,由微丝、微管和中间丝构成^[21]。在 MTrPs 的病理机制研究中,细胞骨架目前仍处“黑箱”状态,有待进一步揭示。

在骨骼肌细胞中,微管位于肌原纤维间,并以螺旋方式包绕肌原纤维,向四周扩散,其具有聚合和解

聚的动力学特性,在维持细胞形态、细胞分裂、信号转导及物质输送等过程中起着重要作用^[10]。大负荷运动尤其是离心运动,可诱导细胞微管解聚或降解,致使肌纤维超微结构改变^[22]。还有研究表明,线粒体动力学改变依赖肌动蛋白和微管蛋白的正常功能^[23]。分子构成角度的研究发现,微管是由 α 和 β 微管蛋白(α -tubulin and β - tubulin)的异源二聚体组装成长中空聚合物,微管相关蛋白(microtubule-associated proteins, MAPs)则与微管长轴结合以防止解聚^[24]。在微管损伤时,MAPs 可能通过代偿性增加以维持微管稳定以减轻损伤^[22]。MAPs 主要包括 MAP1、MAP2、Tau 和 MAP-4 等,前三者主要存在于神经元细胞中,而 MAP-4 存在于各种细胞之中,本次实验着重研究非神经细胞,因此选择 MAP-4 作为研究对象。

基于以上研究进展,本研究团队认为 MTrPs 骨骼肌的能量代谢障碍和超微结构损伤可能与微管解聚或降解相关。在本实验研究结果中,与空白组相比,模型组 α -tubulin 表达下降、MAP-4 表达升高;与模型组相比,按法组 α -tubulin 表达升高、MAP-4 表达下降。免疫荧光结果表明,模型组 α -tubulin 分布连续性和完整性欠佳,在肌细胞内表达减少,在细胞外基质表达增多,MAP-4 在细胞外基质表达增多,两者在按法组有一定改善。以上均表明在 MTrPs 模型中,微管解聚或降解,导致 α -tubulin 表达下调、MAP-4 表达上调,则可能为一种代偿性增加,以稳定微管,同时 α -tubulin 和 MAP-4 表达模式发生改变,在细胞外基质中表达增加,这可能与之前观察到的细胞外基质增生、成纤维细胞增加等现象有关^[7],通过按法干预可以有效缓解上述病理改变。在前期研究中,本研究团队发现 MTrPs 肌肉细胞内钙离子通道蛋白异常表达^[5],而细胞内钙超载可引起微管损伤^[25],在按法干预后钙离子通道蛋白表达恢复,这可能是按法调控微管解聚的重要途径之一。

综上所述,MTrPs 造模后,骨骼肌微管蛋白解聚或降解增加,而按法干预大鼠 MTrPs 可以减少微管蛋白解聚并促进其合成,促使其结构和功能正常化,这可能是按法舒筋解结效应的重要科学内涵之一。

参考文献

[1] 蒋全睿,匡小霞,危威,等.激痛点的形成机制及诊察与物理治

- 疗[J].中华物理医学与康复杂志,2022,44(5):476-480.
- [2] CHARLES D, HUDGINS T, MACNAUGHTON J, et al. A systematic review of manual therapy techniques, dry cupping and dry needling in the reduction of myofascial pain and myofascial trigger points[J]. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, 2019, 23(3): 539-546.
- [3] PÉREZ-PALOMARES S, JIMÉNEZ-SÁNCHEZ C, SERRANO-HERRERO I, et al. Is instrumental compression equally effective and comfortable for physiotherapists and physiotherapy students than manual compression? A comparative cross-sectional study[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(22): 12121.
- [4] SHERAZI S A H, SOOMRO R R, AHMAD M, et al. Management practices in myofascial pain syndrome among physical therapists in Karachi, Pakistan: A cross sectional survey[J]. *The Journal of the Pakistan Medical Association*, 2020, 70(7): 1220-1224.
- [5] 蒋全睿,吴琼,匡小霞,等.按压对大鼠肌筋膜激痛点软组织张力的影响及其作用机制研究[J].中国疼痛医学杂志,2021,27(5):335-341.
- [6] 匡小霞,李铁浪,危威,等.机械按压对大鼠肌筋膜激痛点能量代谢及线粒体超微结构的影响[J].湖南中医药大学学报,2021,41(11):1765-1771.
- [7] JIANG Q R, FENG X, LIU D, et al. Pressing intervention promotes the skeletal muscle repair of traumatic myofascial trigger points in rats[J]. *Journal of Pain Research*, 2021, 14: 3267-3278.
- [8] ABREU-BLANCO M T, WATTS J J, VERBOON J M, et al. Cytoskeleton responses in wound repair[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2012, 69(15): 2469-2483.
- [9] BARTOLÁK-SUKI E, IMSIROVIC J, NISHIBORI Y, et al. Regulation of mitochondrial structure and dynamics by the cytoskeleton and mechanical factors[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(8): 1812.
- [10] 姚泰,赵志奇,朱大年.人体生理学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2015.
- [11] 史晓萍,宗阿南,陶钧,等.《关于善待实验动物的指导性意见》的研究[J].中国医科大学学报,2007,36(4):493.
- [12] 赵贞妍,叶刚,黄强民,等.损伤性大鼠肌筋膜疼痛触发点的肌电活动和组织形态学特征[J].中国康复医学杂志,2012,27(7):594-599.
- [13] 韩蓓,黄强民,谭树生,等.大鼠肌筋膜疼痛触发点自发肌电现象和病理组织学研究[J].中国运动医学杂志,2011,30(6):532-535, 531.
- [14] 蒋全睿,李武,刘小卫,等.按法对肱二头肌延迟性肌肉酸痛志愿者血清 T-AOC 和 CK-MM 水平的影响[J].针灸推拿医学(英文版),2018,16(2):89-95.
- [15] 蒋全睿,李江山,陈四红,等.不同参数和方式按压心俞穴对局部温度影响的正交试验[J].针灸推拿医学(英文版),2019,17(3):147-154.
- [16] 王列,马帅,马铁明,等.激痛点与阿是穴、压痛点、腧穴、经筋点、结筋病灶点辨析[J].中西医结合研究,2021,13(6):415-417.
- [17] MORIKAWA Y, TAKAMOTO K, NISHIMARU H, et al. Compression at myofascial trigger point on chronic neck pain provides pain relief through the prefrontal cortex and autonomic nervous system: A pilot study[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2017, 11: 186.
- [18] KODAMA K, TAKAMOTO K, NISHIMARU H, et al. Analgesic effects of compression at trigger points are associated with reduction of frontal polar cortical activity as well as functional connectivity between the frontal polar area and Insula in patients with chronic low back pain: A randomized trial[J]. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 2019, 13: 68.
- [19] 李晶晶,沈世辉,蒋全睿,等.不同力度按压心俞穴对局部血流速度和温度的影响[J].新中医,2021,53(2):122-125.
- [20] 江玉婷,李铁浪,李江山,等.推拿按法对慢性激痛点模型大鼠骨骼肌超微结构的影响[J].湖南中医药大学学报,2021,41(1):85-90.
- [21] HOHMANN T, DEGHANI F. The cytoskeleton—a complex interacting meshwork[J]. *Cells*, 2019, 8(4): 362.
- [22] 刘晓然,李俊平,王蕴红,等.大负荷运动及针刺干预对骨骼肌微管蛋白的影响[J].中国组织工程研究,2016,20(33):4949-4956.
- [23] LÓPEZ-DOMÉNECH G, COVILL-COOKE C, IVANKOVIC D, et al. Miro proteins coordinate microtubule- and actin-dependent mitochondrial transport and distribution[J]. *The EMBO Journal*, 2018, 37(3): 321-336.
- [24] MANDELKOW E, MANDELKOW E M. Microtubules and microtubule-associated proteins[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 1995, 7(1): 72-81.
- [25] ZHANG B T, WHITEHEAD N P, GERVASIO O L, et al. Pathways of Ca^{2+} entry and cytoskeletal damage following eccentric contractions in mouse skeletal muscle[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2012, 112(12): 2077-2086.

(本文编辑 匡静之)