

·针灸推拿·

本文引用:周竞颖, 来奕恬, 丁攀婷, 张国山, 刘 密. 针灸对克罗恩病模型大鼠天枢穴局部皮肤中缓激肽、CGRP 和 NPY 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(1): 100-105.

针灸对克罗恩病模型大鼠天枢穴局部皮肤中 缓激肽、CGRP 和 NPY 的影响

周竞颖¹, 来奕恬¹, 丁攀婷¹, 张国山^{2*}, 刘 密^{2*}

1.湖南中医药大学研究生院,湖南 长沙 410208;2.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** 观察艾灸与针刺对克罗恩病模型大鼠天枢穴局部皮肤中缓激肽(bradykinin, BK)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptid, CGRP)、神经肽 Y(neuropeptide Y, NPY)含量的影响。**方法** 将 50 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、艾灸组、针刺组和西药组,每组 10 只。除正常组外,其余各组应用 2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)灌肠的方法制备克罗恩病肠纤维化大鼠模型。模型制备成功后,分别采用艾灸和针刺的方法干预艾灸组和针刺组大鼠双侧天枢穴和上巨虚穴,每次 15 min;西药组大鼠给予美沙拉嗪肠溶片溶液灌胃。上述干预均 1 次/d,连续干预 7 d。干预结束后,肉眼和 HE 染色观察各组大鼠结肠病理形态学变化;剪取各组大鼠天枢穴局部皮肤,ELISA 法检测 BK 的蛋白表达,Western blot 法检测 CGRP、NPY 的蛋白表达。**结果** 与正常组相比,模型组大鼠肠壁可见典型鹅卵石样改变、黏膜充血水肿等病理形态学损伤,天枢穴局部皮肤中 BK 含量显著升高($P<0.01$),CGRP 相对表达量显著降低($P<0.05$),NPY 相对表达量差异无统计学意义($P>0.05$)。与模型组相比,各治疗组大鼠肠黏膜受损伤情况明显较轻,天枢穴局部皮肤中 BK 含量均显著降低($P<0.01$),CGRP 相对表达量均显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$),NPY 相对表达量差异无统计学意义($P>0.05$)。针刺组、艾灸组和西药组 3 组之间相比,天枢穴局部皮肤中 BK、CGRP 和 NPY 的差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 克罗恩病大鼠天枢穴局部皮肤中 BK、CGRP 的变化可能是肠黏膜病变在体表的客观反映,艾灸、针刺对克罗恩病大鼠天枢穴局部皮肤中 BK、CGRP 具有调节作用。

[关键词] 克罗恩病;针灸;缓激肽;降钙素基因相关肽;神经肽 Y;天枢;上巨虚

[中图分类号]R245 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.01.015

Effects of acupuncture and moxibustion on bradykinin, CGRP and NPY in the local skin of "Tianshu" (ST25) in Crohn's disease model rats

ZHOU Jingying¹, LAI Yitian¹, DING Panting¹, ZHANG Guoshan^{2*}, LIU Mi^{2*}

1. Graduate School of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. College of Acupuncture & Tuina and Rehabilitation of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To observe the effects of acupuncture and moxibustion on the content of bradykinin (BK), calcitonin gene-related peptide (CGRP) and neuropeptide Y (NPY) in the local skin of "Tianshu" (ST25) in Crohn's disease model rats. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into normal group, model group, moxibustion group, acupuncture group and western medicine group, with 10 rats in each group. Except for the normal group, the rats in the other groups were treated with 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) enema to prepare intestinal fibrosis rat model of Crohn's disease. Moxibustion and acupuncture were respectively used to intervene the bilateral "Tianshu" (ST25) and "Shangjuxu" (ST37) of the moxibustion group and acupuncture group, for 15 min each time. Meanwhile, the western medicine group was given mesalazine enteric-coated tablet solution by gavage. The above interventions

[收稿日期]2022-03-17

[基金项目]国家自然科学基金项目(81603705,81774438);中国博士后科学基金项目(2107M612567);湖南省自然科学基金项目(2021JJ30513, 2017JJ3245);湖南省教育厅科学研究项目(20B444)。

[第一作者]周竞颖,女,硕士研究生,研究方向:针刺治病机理的研究。

[通信作者]*张国山,男,副教授,硕士研究生导师,E-mail:tcmzgs@163.com;刘 密,男,教授,博士研究生导师,E-mail:7417091@qq.com。

were performed once a day for 7 consecutive days. After the intervention, the pathological changes of colon tissue in rats of each group were observed by the naked eye and HE staining. The local skin of "Tianshu" (ST25) in rats of each group was cut, then the protein expression of bradykinin was detected by ELISA method, and the protein expression levels of CGRP and NPY were detected by Western blot. **Results** Compared with the normal group, the model group showed pathological damages of the intestinal wall, such as typical cobblestone-like changes, mucosal congestion and edema. Moreover, for the local skin of "Tianshu" (ST25) in the model group, the content of BK ($P<0.01$) was significantly higher, the relative expression of CGRP ($P<0.05$) was significantly lower, and the relative expression of NPY was not significant different ($P>0.05$). Compared with the model group, in each treatment group, the intestinal mucosal damage was apparently lighter, the content of BK was significantly reduced ($P<0.01$), the relative expression of CGRP significantly increased ($P<0.01$ or $P<0.05$), and there was no statistical difference ($P>0.05$) in the relative expression of NPY in the local skin of "Tianshu" (ST25). There was no statistical difference ($P>0.05$) in the content of BK, CGRP and NPY in the local skin of "Tianshu" (ST25) among the acupuncture group, moxibustion group and western medicine group. **Conclusion** The changes of BK and CGRP in the local skin of "Tianshu" (ST25) in Crohn's disease rats may be the objective manifestation of intestinal lesions. Acupuncture and moxibustion may regulate BK and CGRP in the local skin of "Tianshu" (ST25) in rats with Crohn's disease.

[**Keywords**] Crohn's disease; acupuncture and moxibustion; bradykinin; calcitonin gene-related peptide; neuropeptide Y; "Tianshu" (ST25); "Shangjiuxu" (ST37)

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种慢性炎症性疾病,可能发生于口腔到肛门中的任意一段消化道。近年来,我国发病人群不断增多,首发症状包括腹痛、慢性腹泻、瘻管形成和肛周病变等,且通常伴有肠外症状,严重影响患者的生活质量^[1-2]。由于先天性免疫和获得性免疫失调,CD易反复发作,需要长期的药物维持治疗,目前仍无特异性疗法。针灸作为中医传统疗法,具有温通经络、行气活血、补虚抗邪等功效,在肠道疾病临床治疗中使用广泛,取得了良好的治疗效果^[3]。根据CD的临床症状特点,中医辨证其病位在肠,而天枢穴是大肠的募穴,作为肠腑病症的常用穴位^[4]。皮肤作为感受针灸刺激的首个环节,可能是其发挥疗效的首要部位,穴位存在于体表,而体表皮中密集分布着神经纤维,它们可以释放不同类型的神经肽,与全身的免疫细胞群进行交流^[5]。故研究针刺与艾灸启动初始阶段的效应,可通过观察局部穴区组织神经肽的变化来加以分析。因此,本研究通过观察天枢穴局部皮肤中缓激肽(bradykinin, BK)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptid, CGRP)、神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)的蛋白表达水平变化,探讨针灸治疗CD在初始启动环节对天枢穴局部皮肤的影响。

1 材料与方

1.1 动物及分组

清洁级SD雄性大鼠50只,体质量为150~180g,

由厦门大学实验研究动物管理中心提供,实验动物许可号:SYXK(闽)1216-0006。饲养于厦门大学实验动物中心,饲养室温度控制在18~26℃,湿度控制在40%~70%,昼夜交替周期为12h。大鼠自由进食进水,适应性饲养7d后,完全随机分成正常组、模型组、针刺组、艾灸组和西药组,每组10只。实验研究过程中进行的操作和处理方式符合《关于善待实验动物的指导性意见》规定。

1.2 主要试剂及仪器

2,4,6-三硝基苯磺酸溶液(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)(上海Sigma Alrdich公司,批号:762229);Western blot试剂盒(武汉默沙克公司,批号:BA23387);ELISA试剂盒(武汉贝莱茵生物科技有限公司,批号:RA21360);BA110S万分之一电子天平(德国Sartorius公司,型号:BCE224-1CCN);病理组织包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);石蜡病理切片机(上海徠卡仪器有限公司,型号:RM2016);SPECTRAMAX多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司,型号:SpectraMax M3);艾条(湖香艾生物科技有限公司,0.7cm×2cm);针灸针(苏州医疗用品有限公司,0.25mm×25mm)。

1.3 模型制备及评价标准

应用TNBS制备CD肠纤维化大鼠模型:将5%(W/V)TNBS与50%乙醇按2:1比例混合成TNBS灌肠液^[2]。用改良型灌胃针连接注射器,按3mL/kg大鼠体质量抽取适量灌肠液,用10%水合氯醛腹腔麻醉

大鼠后将其头下尾上倒置,然后把灌胃针缓慢插入肛门6~8 cm,注入灌肠液,当注射器内灌肠液消失后继续推进0.2 mL空气,以保证灌肠液完全注入肠腔。然后拔出灌胃针,再将大鼠倒立1 min左右,以防液体溢出。每隔7 d重复灌肠1次,共4次。模型制备成功的评价标准^[2]:大鼠出现不同程度的少食、稀便、黏液便,体质量减轻;部分大鼠出现血便,经隐血试剂测试显阳性;结肠出现典型的鹅卵石样改变,黏膜充血、出血、糜烂,偶见线性溃疡;病理切片见中性粒细胞、淋巴细胞浸润。

1.4 干预方法

参照李忠仁主编的《实验针灸学》及拟人比照法^[6],选取双侧天枢穴和上巨虚穴进行针刺与艾灸干预。大鼠天枢穴位于胸剑联合下40 mm,腹直肌及其鞘处,相距前正中线5 mm;上巨虚穴位于大鼠膝关节外下方腓骨小头下约10 mm处,足三里向下约5 mm处。

模型制备成功后,将针刺组大鼠固定,使其腹部与四肢暴露,用75%的乙醇消毒大鼠双侧天枢穴和上巨虚穴后,将针灸针刺入3~5 mm,行捻转手法20 s后留针15 min,治疗中间及拔针时各行捻转手法20 s;采用相同的方法将艾灸组大鼠固定并膻穴局部消毒后,将温灸纯艾条(0.7 cm×12 cm)置于双侧天枢穴和上巨虚穴上方3~5 cm处,每次15 min(首次施灸时采用自制体表温度传感器,将其固定于施灸部位,以确保艾灸时皮肤感受温度波动在45℃左右);用双蒸水与研磨后的美沙拉嗪肠溶片混合配制成灌胃液,按照成人体质量(70 kg)用药量为4 g/d,以大鼠体质量(200 g)换算大鼠投药量为0.36 g/kg,每天给予西药组大鼠灌胃处理^[7]。3组干预方法均每天1次,连续干预7 d。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 一般行为学观察 每天观察大鼠的日常情况,包括精神状况、皮毛颜色光泽、反应灵敏程度、活动度、摄食量、摄水量、肛周情况、大小便性状及存活数量等。

1.5.2 结肠病理形态学观察 干预结束后,用10%水合氯醛腹腔麻醉大鼠,然后将其固定于鼠板上,打开腹腔,截取距肛门6~7 cm处结肠约1 cm,纵向剖开后用冰生理盐水冲洗干净,肉眼观察其病理形态学变化;然后剪取肉眼可见损伤最明显的肠组织

2 cm左右,将其置于4%多聚甲醛固定液中固定24 h,行HE染色后,光学显微镜下观察其病理形态学变化。

1.5.3 天枢穴局部皮肤中BK、CGRP、NPY的表达

各组大鼠天枢穴局部皮肤除毛后,剪取少许天枢穴局部皮肤组织(约5 mm×5 mm×5 mm),将其置于匀浆器中剪碎,加入裂解液充分裂解匀浆30 min,然后将其转移至1.5 mL的离心管中,在4℃下12 000 r/min、半径为10 cm离心10 min,取0.5 mL上层清液并将其置于冻存管中,储存于-20℃冰箱待检测。分别采用ELISA法检测BK的蛋白含量,采用Western blot法检测CGRP、NPY的蛋白相对表达。

1.6 统计学方法

采用SPSS 20.0软件系统进行分析。各项检验指标的统计数据,首先进行正态性检验。若符合正态分布则用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,再进行方差齐性检验,若符合则使用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验;若不符合方差齐性则用Dunnett T3分析。若实验研究数据不符合正态分布和方差齐性,采用秩和检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较

造模前,各组大鼠精神状态好,毛色光泽而活动灵敏,食量、二便均正常。造模后,正常组较造模前无明显变化,模型组大鼠精神萎靡、嗜卧,毛发稀疏暗黄,对外界刺激灵敏度下降,厌食消瘦,体质量明显下降,肛周可见浅黄色糊状粪便,部分大鼠甚至可见黏液脓血便或血便。干预后,正常组和模型组较干预前无明显变化,针刺组、艾灸组和西药组大鼠的精神状态、毛发光泽度、活动度、二便情况等均有显著改善。造模及针灸、药物干预过程中,均未出现大鼠死亡。

2.2 各组大鼠结肠病理形态学比较

肉眼观察可见:正常组大鼠结肠组织呈淡红色,质地光滑柔软,没有出现明显充血、水肿以及增生现象,肠壁较薄;模型组大鼠结肠内壁可见典型的鹅卵石样改变,局部可见明显溃疡及息肉,颜色暗红,肠壁增厚变硬;经过治疗后,针刺组、艾灸组和西药组大鼠结肠损伤情况较模型组均有明显改善,结肠组

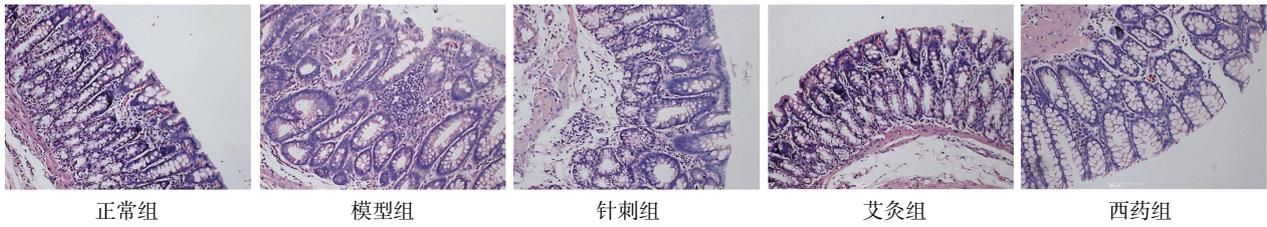


图1 各组大鼠结肠组织镜下观察比较(HE,×100)

织较模型组柔软光滑,局部充血和水肿情况较轻,并未见明显溃疡糜烂面,肠壁变薄。HE染色后,在光镜下可见:正常组大鼠结肠组织的腺体结构较完整,结肠肠壁肌层、浆膜层的层次清晰,未见增生、充血水肿等现象;模型组大鼠可见腺体结构破坏,黏膜层损伤严重,结肠黏膜上皮层有明显缺损,存在裂隙状溃疡,黏膜下层组织水肿严重,大量炎症细胞浸润,偶有结节病样肉芽肿;经过治疗后,针刺组、艾灸组和西药组大鼠可见结肠腺体结构恢复,黏膜损伤修复,层次清晰明显,炎症细胞浸润明显改善,结肠组织水肿减轻。详见图1。

2.3 各组大鼠天枢穴局部皮肤中BK含量比较

与正常组相比,模型组大鼠天枢穴局部皮肤中BK的含量显著升高($P<0.01$);与模型组相比,针刺组、艾灸组和西药组大鼠天枢穴局部皮肤中BK的含量均显著降低($P<0.01$);针刺组、艾灸组和西药组大鼠天枢穴局部皮肤中BK的含量相比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表1。

表1 各组大鼠天枢穴局部皮肤中BK含量比较($\mu\text{g/mL}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	BK含量
正常组	10	8.24±2.11
模型组	10	19.09±3.57 ^{▲▲}
针刺组	10	12.78±2.33 ^{**}
艾灸组	10	10.12±1.51 ^{**}
西药组	10	10.35±1.49 ^{**}

注:与正常组相比,▲▲ $P<0.01$;与模型组相比,** $P<0.01$ 。

2.4 各组大鼠天枢穴局部皮肤中CGRP、NPY蛋白相对表达量比较

与正常组相比,模型组大鼠天枢穴局部皮肤中CGRP相对表达量显著降低($P<0.05$);与模型组相比,针刺组、艾灸组和西药组大鼠天枢穴局部皮肤中CGRP相对表达量均显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。模型组与正常组大鼠相比,针刺组、艾灸组和西药组分

别与模型组大鼠相比,天枢穴局部皮肤中NPY相对表达量差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见图2、表2。

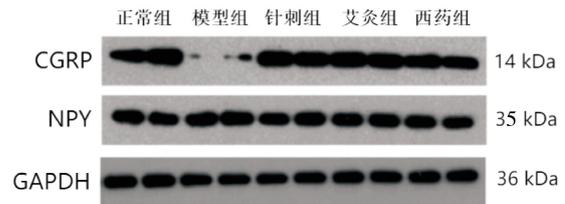


图2 各组大鼠天枢穴局部皮肤中NPY、CGRP蛋白电泳图

表2 各组大鼠天枢穴局部皮肤中NPY、CGRP蛋白相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CGRP	NPY
正常组	10	1.00±0.20	1.00±0.12
模型组	10	0.21±0.16 ^{▲▲}	1.37±0.15
针刺组	10	1.35±0.20 [*]	1.21±0.02
艾灸组	10	1.22±0.04 ^{**}	1.17±0.06
西药组	10	1.02±0.09 [*]	1.03±0.12

注:与正常组相比,▲▲ $P<0.05$;与模型组相比,** $P<0.01$,* $P<0.05$ 。

3 讨论

现代医学治疗CD以控制炎症、缓解症状为治疗目标,多使用糖皮质激素、生物制剂及免疫抑制剂等作为治疗手段^[8]。一旦确诊,患者需要面对终身服药的可能,长期使用产生较多不良反应,同时持续的西药较为昂贵^[9],患者易产生恐惧心理,从而导致治疗的依从性降低,对其社会功能产生严重影响^[10]。艾灸和针刺作为我国中医传统治疗方法,能够多靶点、多通路的调节全身免疫系统功能,不仅效优价廉,而且不良反应较少,且随访发现针灸对于慢性肠道疾病的疗效明显优于西药长期治疗,在临床上取得了良好的治疗效果^[11]。《素问·灵兰秘典论》中认为:“小肠者,受盛之官,化物出焉。大肠者,传道之官,变化出焉。”因此,推测腹痛、腹泻等CD的主要临床症状,与“大肠传导”和“小肠泌别清浊”的功能失常有关,其病位在肠。针灸治疗时辨经论治,可选取“起于胃口,下循腹里”的足阳明胃经,其经脉循行穿过肠腑。天枢穴属足阳明胃经,同时是大肠募穴,符合“经脉

所过,主治所及”和“局部取穴”等针灸选穴规律^[12]。天枢穴是治疗肠腑病症的要穴,更是运行全身气机的枢纽,具有调畅全身气机、调节肠腑功能的作用^[13]。因此,本研究选取天枢穴局部皮肤组织,作为针灸治疗 CD 始动机制的观察部位。

近年来,随着皮肤-皮肤神经-神经内分泌轴及免疫系统之间交互作用网络研究的深入,皮肤与神经、免疫、内分泌系统之间的紧密联系得到了进一步证实。皮肤免疫细胞中朗格汉斯细胞、角质形成细胞、肥大细胞等能够激活和产生多种炎症细胞因子和趋化因子,引起炎症反应^[14]。同时,皮肤中肥大细胞与梅克尔细胞均能与感觉神经发生交互作用,使得皮肤在神经调节下发挥稳定的效应机制^[15]。由此可见,皮肤不仅是物理屏障,它还是一个巨大的免疫器官、免疫场所,大量的免疫反应在此进行。“皮肤-神经-免疫”学说与传统医学的“脏腑-经络”相关理论有相似之处。在“脏腑-经络”相关理论中,脏腑的异常改变可以反映到相应的体表穴区,表现出特定的症状和体征,同时刺激特定的穴位可对相应脏腑的生理功能和病理改变起到调节作用^[16]。研究发现,针灸天枢穴、气海穴能够改善 CD 大鼠的肠纤维化,下调结肠组织中 TGF- β 蛋白、Smad4 蛋白及其 mRNA 的表达,抑制肠上皮细胞的异常凋亡,保护肠上皮细胞屏障,减轻肠道炎症反应,从而抑制 CD 导致的肠上皮纤维化^[17]。可见,通过针灸干预相应的腧穴即可治疗脏腑的病变,这给针灸治疗 CD 的机制研究提供了新的思路和方法。而针灸等外治疗法首先作用于腧穴局部的皮肤,其中,皮肤神经肽是联系皮肤免疫系统与神经系统的桥梁,皮肤神经末梢分泌神经肽能影响活化的免疫细胞^[14]。因此,本研究以皮肤免疫系统为切入点,观察针灸对 CD 模型大鼠天枢穴局部皮肤中相关炎症因子的调节作用,旨在从皮肤免疫角度揭示针灸治疗 CD 的可能作用机制。

BK 是激肽释放酶-激肽系统的重要组成部分,能够激活外周神经纤维周围非神经细胞上的受体,间接作用于初级感觉神经末梢,增大伤害性信息的传入;通常激肽原在机体遭受过度激活和病理刺激时会产生促炎状态^[18]。BK 通过缓激肽 B2 受体影响肠道黏膜下神经丛环氧合酶 2 的表达,催化花生四烯酸转化为前列腺素 E2 并刺激其释放,参与肠道

炎症反应^[19]。研究表明,BK 在炎性痛和神经病理性痛的发生、维持中发挥重要的作用,BK 在疼痛的产生和传导以及针刺镇痛过程中起着不可或缺的作用^[20]。本实验模型组在结肠组织发生损伤、炎症的情况下,天枢穴局部皮肤中 BK 的含量明显升高,表明天枢穴局部皮肤中致痛物质 BK 参与神经纤维的激活和传导,激肽原处于激活状态,说明在 CD 状态下天枢穴局部皮肤存在炎性疼痛和神经病理性疼痛反应;与模型组相比,艾灸组、针刺组和西药组 3 组大鼠天枢穴局部皮肤中 BK 的含量均显著降低,这可能预示着针灸和西药都对 CD 模型大鼠结肠炎症状具有缓解作用,与天枢穴局部皮肤中穴区致痛物质和炎症介质含量的调节有关。

CGRP 存在于皮肤的感觉神经纤维中,主要由背神经节合成,皮肤中淋巴细胞等非神经细胞也可表达,伤害性感觉神经刺激其末梢释放 CGRP 并传导疼痛,CGRP 能直接作用于巨噬细胞和树突细胞,参与调节全身炎症反应,结肠段是 CD 的高发部位,且 CGRP 已被证实与结肠内脏痛有着密切关系^[21-22];CGRP 可调节 T 淋巴细胞增殖和细胞毒作用,促进 T 淋巴细胞和巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-6、IL-12 和前列腺素等^[23];CGRP 能够维持肠道黏膜的完整性,这可能是未来干预 CD 等肠道疾病的重要手段^[24-25]。研究发现,通过针灸使体内 CGRP 含量升高,对于结肠具有保护作用^[25]。本研究结果显示,针刺组和艾灸组天枢穴区皮肤中 CGRP 蛋白相对表达量也显著上升,猜测其原因可能为针灸刺激伤害性感觉神经引起神经递质 CGRP 释放,其后与机体皮肤中淋巴细胞、树突细胞相互作用,调节相应细胞因子的分泌。由此推测,CGRP 可能参与了针刺和艾灸干预的皮肤免疫过程。

NPY 广泛分布于人体的中枢和外周神经系统,在皮肤中分布于真皮深层血管周围^[26]。研究表明,NPY 与肠道炎症反应密切相关,NPY 在炎性肠病大鼠肠内神经元中的表达水平显著上调^[27]。杨敏等^[28]使用针灸治疗肠易激综合征模型大鼠,结果显示针灸能够改善其脑-肠轴失衡,下调肥大细胞数量,升高脑组织和肠组织中的 NPY 浓度。还有研究表明,艾灸足三里后,能够调节局部组织中 NPY 的含量,但针刺时含量变化不明显^[29]。本次实验中,模型组与正常组

大鼠之间,针刺组、艾灸组和西药组3个治疗组与模型组之间对比,差异均无统计学意义($P>0.05$),提示本研究所制备的CD模型大鼠不足以引起其天枢穴局部皮肤中 NPY 产生显著性变化。

本次实验通过现代技术手段证明,与正常大鼠相比,CD模型大鼠天枢穴局部皮肤中 CGRP 蛋白的相对表达显著降低,BK 的含量显著升高,提示 CD 大鼠天枢穴局部皮肤中 BK、CGRP 的变化可能是肠腑病变在体表的客观反映。进一步来说,针灸能够提高 CD 模型大鼠穴区局部皮肤中的 CGRP 蛋白水平,降低致痛因子 BK 的含量,由此推测,针刺、艾灸对 CD 模型大鼠症状有缓解作用,可能与其对天枢穴局部皮肤组织神经肽如 BK、CGRP 含量的调节有关。

参考文献

- [1] FEUERSTEIN J D. Crohn disease: Epidemiology, diagnosis, and management[J]. Mayo Clinic Proceedings, 2017, 92(7): 1088-1103.
- [2] 王硕硕,包春辉,王伟灵,等.艾灸对克罗恩大鼠结肠 RoR γ t、Foxp3 调节作用研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2016,18(3):368-373.
- [3] 吴焕淦,施茵,张卫,等.针灸防治炎症性肠病进展与思考[J].中国针灸,2006,26(6):454-458.
- [4] 陈丽,张议文,王健.针灸治疗腹泻型肠易激综合征选穴规律探讨[J].吉林中医药,2016,36(7):737-739.
- [5] CHOI J E, NARDO A D. Skin neurogenic inflammation[J]. Seminars in Immunopathology, 2018, 40(3): 249-259.
- [6] 李忠仁.实验针灸学[M].2版.北京:中国中医药出版社,2007:255.
- [7] 赵伟,孙国志.不同种实验动物间用量换算[J].畜牧兽医科技信息,2010(5):52-53.
- [8] 郑哈哈,江学良.生物制剂治疗克罗恩病的研究进展[J].医学新知,2021,31(6):447-454.
- [9] BAO C H, ZHAO J M, LIU H R, et al. Randomized controlled trial: Moxibustion and acupuncture for the treatment of Crohn's disease[J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 20(31): 11000-11011.
- [10] 孟婷,薛鲜敏,樊晓辉,等.炎症性肠病患者恐惧疾病进展现状和生活质量分析[J].胃肠病学,2021,26(4):198-203.
- [11] 陈颖.克罗恩病的辨证论治及针灸治疗的研究进展[J].中国中医急症,2019,28(7):1313-1316.
- [12] 王启才.针灸治疗学[M].北京:中国中医药出版社,2017:69-71.
- [13] 石学敏.针灸学[M].2版.北京:中国中医药出版社,2007:295-296.
- [14] 万逸枫,蒋献.角质形成细胞与皮肤免疫屏障[J].临床皮肤科杂志,2012,41(11):708-710.
- [15] 王骏,刘太华,刘德芳,等.银屑病患者梅克尔细胞角蛋白表达及与氨基肽酶 N 表达的关系[J].西南国防医药,2011,21(2):134-137.
- [16] 张倩,周美启.试析经脉脏腑相关理论的文化因素[J].中国针灸,2019,39(5):535-539.
- [17] 吴焕淦,赵琛,吴璐一,等.艾灸对克罗恩病肠纤维化大鼠结肠黏膜 TGF- β 及 Smad4 表达的影响[J].针灸推拿医学(英文版),2012,10(6):331-335.
- [18] 陈烁,刘宏滨,王和洪,等.缓激肽 B2 受体基因多态性对骨关节炎易感性和严重性的影响[J].现代生物医学进展,2013,13(12): 2328-2331.
- [19] 马圣尧,王伟瑜,王怀杰,等.缓激肽上调豚鼠肠道黏膜下神经丛环氧合酶 2 的表达[J].生物化学与生物物理进展,2022,49(1):62-71.
- [20] GUEVARA-LORA I. Kinin-mediated inflammation in neurodegenerative disorders[J]. Neurochemistry International, 2012, 61(1): 72-78.
- [21] 李泓邑,刘孝文,赵晶.伤害性感觉神经对炎症反应调节的最新研究进展[J].麻醉安全与质控,2019,3(2):116-120.
- [22] 代巧妹,王美娇,颜培宇,等.针刺“足三里”对免疫抑制大鼠的作用及穴区 CGRP 表达影响的研究[J].针灸临床杂志,2018,34(5): 49-52.
- [23] 朱兵.穴位敏化现象及其生物学意义[J].中国针灸,2019,39(2): 115-121.
- [24] 黄瑞,邹继红,王胜兰.艾灸对溃疡性结肠炎模型小鼠结肠黏膜损伤及结肠远端黏膜层 CGRP 阳性神经纤维表达的影响[J].中国针灸,2021,41(10):1127-1134.
- [25] EVANGELISTA S. Capsaicin receptor as target of calcitonin gene-related peptide in the gut[J]. Progress in Drug Research Fortschritte Der Arzneimittelforschung Progres Des Recherches Pharmaceutiques, 2014, 68: 259-276.
- [26] ENGEL M A, BECKER C, REEH P W, et al. Role of sensory neurons in colitis: Increasing evidence for a neuroimmune link in the gut[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2010, 17(4): 1030-1033.
- [27] CHANDRASEKHARAN B, BALA V, KOLACHALA V L, et al. Targeted deletion of neuropeptide Y(NPY) modulates experimental colitis[J]. PLoS One, 2008, 3(10): e3304.
- [28] 杨敏,邹燃,邓薇,等.针灸联合药物治疗对肠易激综合征大鼠脑-肠轴失衡的作用研究[J].中国病理生理杂志,2021,37(12):2251-2257.
- [29] 钟欢.艾灸与针刺对局部穴区组织免疫及代谢调节机制的对比研究[D].长沙:湖南中医药大学,2017.