

·针灸推拿·

本文引用: 李晓阳, 李冠男, 徐 宁, 张丙祥, 王 锐, 王玲姝. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路探讨火针治疗坐骨神经损伤大鼠的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(1): 62-69.

基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路探讨火针治疗 坐骨神经损伤大鼠的作用机制

李晓阳¹, 李冠男², 徐 宁², 张丙祥¹, 王 锐¹, 王玲姝^{2*}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150040

〔摘要〕 目的 基于磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路探究火针治疗坐骨神经损伤大鼠的作用机制。方法 采用止血钳挤压法构建坐骨神经压迫损伤模型大鼠,将造模成功的 36 只大鼠随机均分为模型组与火针组,未进行造模处理(仅暴露神经不进行钳夹处理)的 18 只大鼠作为假手术组。造模成功后,假手术组与模型组大鼠仅捆绑固定处理,火针组大鼠在捆绑固定后于患侧环跳、委中穴进行火针干预,每隔 1 天干预 1 次,疗程 14 d。在干预 1、7、14 d 后检测各组大鼠坐骨神经功能指数(SFI)以评估其运动功能,腓肠肌湿重比与 Masson 染色评估患侧肌肉萎缩程度,透射电镜观察坐骨神经超微形态变化,免疫荧光检测髓鞘碱性蛋白(MBP)表达,Western blot 检测 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达。结果 干预 7、14 d 后,与假手术组相比,模型组大鼠步态出现明显无力、拖拽现象,SFI 评分显著降低($P<0.01$),患侧腓肠肌湿重比显著降低($P<0.01$),透射电镜下坐骨神经轴索萎缩、髓鞘板层明显分离,MBP 蛋白表达显著降低($P<0.01$),坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达显著升高($P<0.01$);与模型组相比,火针组大鼠步态逐渐恢复正常,足趾印记逐步清晰,SFI 评分显著升高($P<0.01$),腓肠肌湿重比显著升高($P<0.05, P<0.01$),肌肉萎缩程度大幅改善,透射电镜下坐骨神经轴突和髓鞘逐渐恢复,MBP 蛋白表达显著升高($P<0.01$),坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达升高($P<0.05, P<0.01$)。与干预 1 d 后比较,火针组干预 7、14 d 后 SFI 评分、MBP 蛋白表达及坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达均升高 ($P<0.05, P<0.01$),干预 7 d 后患侧腓肠肌湿重比显著降低($P<0.01$);与干预 7 d 后比较,火针组干预 14 d 后 SFI 评分、患侧腓肠肌湿重比、MBP 蛋白表达及坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达均升高($P<0.05, P<0.01$)。结论 火针干预可有效促进坐骨神经损伤大鼠的神经恢复,改善其运动功能,其机制可能与激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,促进神经再生和再髓鞘化有关。

〔关键词〕 坐骨神经损伤;火针;PI3K/Akt/mTOR 信号通路;腓肠肌湿重比;坐骨神经功能指数;髓鞘碱性蛋白

〔中图分类号〕R245

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.01.008

Mechanism of action of fire needle therapy in treating sciatic nerve injury in rats based on the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway

LI Xiaoyang¹, LI Guannan², XU Ning², ZHANG Bingxiang¹, WANG Rui¹, WANG Lingshu^{2*}

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150040, China; 2. The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150040, China

〔Abstract〕 Objective To explore the mechanism of action of fire needle therapy in treating sciatic nerve injury in rats based on the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. **Methods** A sciatic nerve compression injury model was established in rats by using hemostatic forceps to apply pressure. Thirty-six successfully modeled rats were randomly and evenly divided into model group and fire needle group. Another 18 rats that did not undergo modeling (only exposed the nerve without clamping) served as sham-operation group. After successful modeling, rats in the

〔收稿日期〕2025-09-28

〔基金项目〕国家自然科学基金项目(82074271);黑龙江省中医药科研项目(ZHY2024-172)。

〔通信作者〕* 王玲姝,女,博士,副教授,硕士研究生导师,E-mail:wanglingshu2013@163.com。

sham-operation and model groups were only subjected to binding and fixation. Rats in the fire needle group received fire needle intervention at the "Huantiao (GB30)" and "Weizhong (BL40)" acupoints on the affected side after binding and fixation, with an intervention frequency of once every other day and a treatment course of 14 days. At 1, 7, and 14 days after intervention, the sciatic nerve function index (SFI) of rats in each group was measured to assess their motor function. The wet weight ratio of the gastrocnemius muscle and Masson staining were used to evaluate the degree of muscle atrophy on the affected side. Transmission electron microscopy was employed to observe the ultrastructural changes of the sciatic nerve. Immunofluorescence was used to determine the expression of myelin basic protein (MBP), and Western blot was used to measure the relative expressions of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-mTOR/mTOR. **Results** At 7 and 14 days after intervention, compared with the sham-operation group, rats in the model group showed significant weakness and dragging in their gait, with a significantly decreased SFI score ($P<0.01$). The wet weight ratio of the gastrocnemius muscle on the affected side was significantly lower ($P<0.01$). Transmission electron microscopy revealed axonal atrophy and obvious separation of the myelin sheath lamellae in the sciatic nerve. The expression of MBP was significantly lower ($P<0.01$), and the relative expressions of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-mTOR/mTOR in the sciatic nerve were significantly higher ($P<0.01$). Compared with the model group, rats in the fire needle group gradually regained normal gait, with gradually clearer toe prints. The SFI score was significantly higher ($P<0.01$), and the wet weight ratio of the gastrocnemius muscle was significantly higher ($P<0.05$, $P<0.01$). The degree of muscle atrophy was significantly alleviated. Transmission electron microscopy showed gradual recovery of the axons and myelin sheaths in the sciatic nerve. The expression of MBP was significantly higher ($P<0.01$), and the relative expressions of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-mTOR/mTOR in the sciatic nerve were higher ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with 1 day after intervention, the SFI score, MBP expression, and the relative expressions of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-mTOR/mTOR in the sciatic nerve of the fire needle group were all higher at 7 and 14 days after intervention ($P<0.05$, $P<0.01$). The wet weight ratio of the gastrocnemius muscle on the affected side was significantly lower at 7 days after intervention ($P<0.01$). Compared with 7 days after intervention, the SFI score, the wet weight ratio of the gastrocnemius muscle on the affected side, MBP expression, and the relative expressions of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-mTOR/mTOR in the sciatic nerve of the fire needle group were all higher at 14 days after intervention ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** Fire needle intervention can effectively promote nerve recovery and improve motor function in rats with sciatic nerve injury. Its mechanism may be related to the activation of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway, which promotes nerve regeneration and remyelination.

[**Keywords**] sciatic nerve injury; fire needle; PI3K/Akt/mTOR signaling pathway; gastrocnemius muscle wet weight ratio; sciatic nerve function index; myelin basic protein

周围神经损伤(peripheral nerve injury, PNI)已成为一个重要的公共卫生问题,其引发的运动和感觉功能障碍不仅带来较高的致残率,更造成了沉重的医疗与经济负担^[1]。坐骨神经损伤(sciatic nerve injury, SNI)是PNI最常见的类型,通常由外部力量挤压或牵拉造成,其具有高致残率、神经功能难恢复等特点,严重影响患者的生活质量^[2]。SNI发生后会引起一系列病理生理变化,包括神经元凋亡、轴突断裂、髓鞘降解等^[3],磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B (protein kinase B, Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路作为细胞内核心调控网络,广泛参与细胞生长、增殖、分化^[4],在SNI后的修复过程中发挥多重关键作用^[5]。火针疗法是将针体烧红后快速刺入一定的穴位或部位,从而发挥温通作用的一种针灸治疗方法^[6]。作为针灸九针之一,火针具有针和灸的双重作用,其对SNI后神经功能的恢复具有确切疗效^[7],然而其作用机制尚未明确。基于此,本研究拟从PI3K/Akt/mTOR信号通路角度探

索火针治疗SNI的作用机制,为推动传统中医针灸疗法的发展提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级6~8周龄SD雄性大鼠54只,体质量200~240 g,购自黑龙江中医药大学实验动物中心,按SPF级的条件饲养于大学实验中心动物房,温度(25±2)℃,湿度40%~50%。所有动物实验程序符合《实验动物管理和使用指南》相关要求,由黑龙江中医药大学动物伦理委员会批准(伦理编号:2022063001)。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 Masson三色染色液(批号:BA4079,珠海贝索生物技术有限公司);BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号:P0011,上海碧云天生物技术有限公司);PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR抗体(批号:20584-1-AP、10176-2-AP、66444-1-Ig、66888-1-Ig、67778-1-Ig,武汉三鹰生物技术有限公司);p-PI3K抗体(批号:ab302959,美国Abcam公司);MBP抗体

(批号:ab218011,上海艾博抗贸易有限公司)。

1.2.2 主要仪器 师式钨钢火针(25 mm×0.4 mm,山西程氏汇通科技有限公司);脱水机、包埋机(型号:JT-12J、JB-L8,武汉俊杰电子有限公司);病理切片机(型号:LEiCA RM2245,德国徕卡仪器有限公司);透射电镜(型号:Tecnaï G 20 TWIN,美国飞显科技有限公司);电泳仪、转膜仪(型号:PowerPac HC、Trans-Blot SD,上海伯乐生命科学研究公司);全自动化学发光图像分析系统(型号:Tanon 5200,上海天能科技有限公司)。

1.3 实验分组及处理

采用止血钳挤压法构建 SNI 大鼠模型^[8]:腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)对大鼠进行麻醉,随后在无菌条件下去除两侧后肢毛发,在大鼠臀股交界区域剪开约 1.5 cm 的纵向切口,钝性分离梨状肌和股二头肌,暴露大鼠坐骨神经;用止血钳在坐骨切迹下方 1 cm 处(坐骨切迹和三叉点之间)夹住坐骨神经 20 s,重复两次,中间间隔 10 s,肉眼可见神经变扁、苍白微透明,仅有神经外膜连接,然后在伤口处注射青霉素钠 0.1 mL 进行抗感染处理;最后使用 4-0 缝合线缝合伤口,用聚维酮碘溶液消毒处理,术后常规喂养。行为学观察大鼠损伤侧下肢出现无力、拖拽、足趾挛缩、重心转移等现象,病理学观察肉眼可见患侧神经变扁、苍白微透明且仅有神经外膜连接,则造模成功。

将造模成功的 36 只大鼠随机均分为模型组与火针组(各 18 只),未进行造模处理(仅暴露神经不进行钳夹处理)的 18 只大鼠作为假手术组。火针干预手段:参照李忠仁主编的《实验针灸学》^[9]选取环跳与委中两穴,采用钨钢火针(25 mm×0.4 mm)进行干预:将针尖放置在酒精灯火焰外焰烧至变红发白后,稍离外焰退火,再放置内焰重新加热变红,随后迅速刺入大鼠患肢的环跳与委中,针刺深度 4~6 mm,每次留针 30 s 后立即取针,休息 30 s 后再进行 1 次。每次干预相隔 1 d,共 7 次,疗程 14 d,以上操作均由同一实验员进行。模型组与假手术组大鼠仅进行与火针组相同的束缚,不给予火针干预。

1.4 观察指标及检测方法

1.4.1 检测坐骨神经功能指数 (sciatic functional index, SFI) 为了评估大鼠坐骨神经的功能恢复情况,在干预 1、7、14 d 后将各组 6 只大鼠的后爪用黑墨水染色,随后置于铺有 A4 纸的自制行走箱(60 cm×15 cm×20 cm)行走,以留下其后脚印,每组大鼠重复采集 3 次足印^[10]。SFI 评分通过以下公式^[11]确定:

$$SFI=109.5 \times (ETS-NTS)/NTS-38.3 \times (EPL-NPL)/NPL+13.3 \times (EIT-NIT)/NIT-8.8$$
。其中,正常足和伤侧足分别以 N、E 表示;PL 表示爪长;TS 表示趾展;IT 表示中间趾展。SFI 评分范围为-100~0 分,0 分表示功能正常,-100 分表示完全功能障碍。

1.4.2 检测腓肠肌湿重比 干预 1、7、14 d 后,处死各组 6 只大鼠并取两侧后肢腓肠肌,分别称取腓肠肌湿重,计算腓肠肌湿重比=(患侧腓肠肌湿重/健侧腓肠肌湿重)×100%。

1.4.3 Masson 染色观察腓肠肌组织形态 干预 1、7、14 d 后,取各组 6 只大鼠腓肠肌肌腹用 4%多聚甲醛固定 2 h,石蜡包埋并行腓肠肌肌腹横断面 10 μm 厚石蜡切片。切片常规脱蜡复水,以改良 Masson 染色试剂盒进行染色,常规脱水、透明、封片,显微镜下观察病理状况。

1.4.4 透射电镜观察坐骨神经超微结构 干预 1、7、14 d 后,取各组 6 只大鼠坐骨神经 5 mm,经 2.5%戊二醛缓冲液固定后,用 0.1 mol/L PBS 漂洗 3 次,50%~90%梯度乙醇和 90%丙酮脱水后包埋,切片,3%醋酸铀-枸橼酸铅双染色,在透射电镜下观察其超微结构。

1.4.5 免疫荧光检测髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)表达 干预 1、7、14 d 后,取各组 3 只大鼠坐骨神经石蜡切片,脱蜡水化,使用柠檬酸抗原修复缓冲液(pH 6.0)进行抗原修复,随后置于 3%过氧化氢溶液中,室温避光孵育,血清封闭后依次孵育 MBP 蛋白一抗、二抗进行显色,复染细胞核后脱水封片,显微镜镜检,细胞核呈蓝色、MBP 阳性表达呈绿色。采集图像,分别测量每张切片中 3 个视野阳性的累积光密度值以及对应的阳性面积,计算平均光密度值。

1.4.6 Western blot 检测 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达 干预 1、7、14 d 后,取各组 3 只大鼠坐骨神经,加入 RIPA 裂解液在液氮条件下研磨(磷酸化蛋白需添加磷酸酶抑制剂),反应 30 min 后离心,取上清液,使用 BCA 试剂盒测定样本总蛋白浓度,随后与蛋白上样缓冲液煮沸 10 min 使蛋白变性。根据蛋白分子量配制相应浓度的 SDS-PAGE 凝胶,随后依次进行电泳、转膜,将蛋白转移到 PVDF 膜上。通过无蛋白快速封闭液封闭后,将提前配好的 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 及 GAPDH (内参)一抗稀释液(稀释 1 000 倍左右)与 PVDF 膜

在 4 ℃ 冰箱孵育过夜,次日与二抗孵育 1 h,洗膜,在膜上目的蛋白区域滴加 ECL 发光液,通过显影仪进行成像,采用 ImageJ 软件分析各组蛋白条带灰度值。

1.5 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件对实验数据进行统计分析,所有测量重复 3 次,测量数据均以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,两组间的比较采用 *t* 检验,多组间的比较采用单因素方差分析或重复测量方差分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义,以 $P < 0.01$ 表示差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠步态与 SFI 评分比较

假手术组大鼠各时间点步态足趾足印清晰,步态正常;模型组大鼠步态出现明显无力、拖拽现象。与假手术组相比,各时间点模型组 SFI 评分显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比,干预 1 d 后火针组步态类似,SFI 评分差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与模型组相比,干预 7、14 d 后火针组大鼠步态逐渐正常,足趾印记逐步清晰,SFI 评分显著升高 ($P < 0.01$)。与干预 1 d 相比,干预 7、14 d 后火针组 SFI 评分显著升高 ($P < 0.01$);与干预 7 d 相比,干预 14 d 后火针组 SFI 评分升高 ($P < 0.01$)。详见图 1—2。

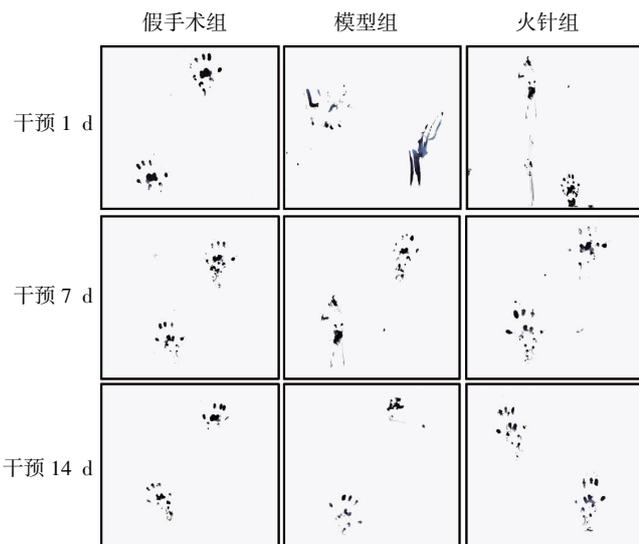


图 1 各组大鼠各时间点步态图 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig.1 Gait patterns of rats in each group at different time points ($\bar{x} \pm s, n=6$)

2.2 各组大鼠腓肠肌湿重比较

假手术组大鼠各时间点两侧腓肠肌湿重比差异

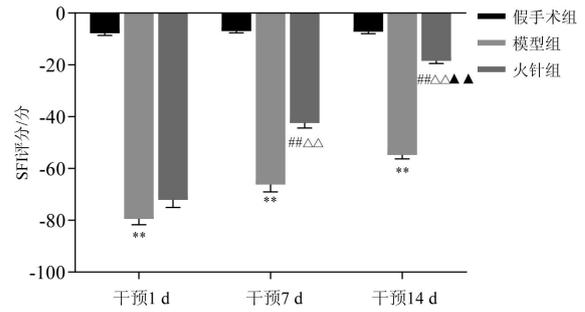


图 2 各组大鼠各时间点 SFI 评分比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig.2 Comparison of SFI scores among different groups of rats at different time points ($\bar{x} \pm s, n=6$)

注:与假手术组相比,** $P < 0.01$;

与模型组相比,## $P < 0.01$;与干预 1 d 相比,△ $P < 0.01$;与干预 7 d 相比,▲ $P < 0.01$ 。无统计学意义 ($P > 0.05$);与假手术组相比,干预 1 d 后模型组大鼠腓肠肌湿重比差异无统计学意义 ($P > 0.05$),干预 7、14 d 后模型组大鼠腓肠肌湿重比显著降低 ($P < 0.01$);与模型组相比,干预 1 d 后火针组大鼠腓肠肌湿重比差异无统计学意义 ($P > 0.05$),干预 7、14 d 后火针组大鼠腓肠肌湿重比升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。与干预 1 d 后相比,干预 7 d 后火针组大鼠腓肠肌湿重比显著降低 ($P < 0.01$);与干预 7 d 后相比,干预 14 d 后火针组大鼠腓肠肌湿重比升高 ($P < 0.05$)。详见图 3。

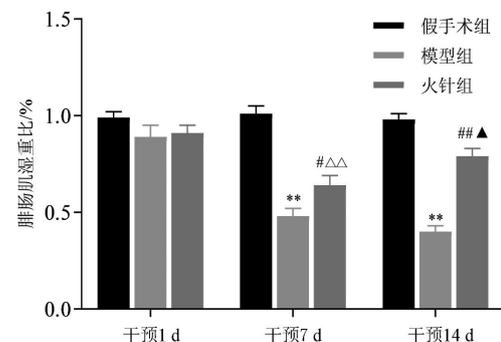


图 3 各组大鼠各时间点腓肠肌湿重比比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig.3 Comparison of gastrocnemius wet weight ratios among different groups of rats at different time points ($\bar{x} \pm s, n=6$)

注:与假手术组相比,** $P < 0.01$;

2.3 各组大鼠腓肠肌 Masson 染色结果

假手术组大鼠腓肠肌肌纤维排列整齐且形态较规则,未见萎缩。干预 1 d 后,模型组与火针组大鼠腓肠肌未出现明显萎缩,但胶原纤维数量增加;干预 14 d 后,模型组大鼠肌肉出现明显萎缩,胶原纤维数量增加。与模型组相比,干预 14 d 后火针组大鼠腓肠肌萎缩程度大幅改善,胶原纤维数量减少,形态

逐渐接近正常。详见图4。

2.4 各组大鼠坐骨神经超微结构

透射电镜下,假手术组视野内神经纤维可见少量脱髓鞘,髓鞘局部排列紧密,神经较完整。模型组视野内神经纤维可见轴索萎缩,轴索膜与髓鞘板层的最内层分离,大量髓鞘板层明显分离,结构紊乱,

神经呈损伤状态。火针组干预1 d后,神经纤维仍呈现轴索萎缩、髓鞘板层分离现象;干预7 d后,神经膜细胞的细胞膜多层包绕轴索形成新生髓鞘,但仍存在修复结构紊乱、排列疏松的旧髓鞘;干预14 d后,坐骨神经出现大量新生髓鞘,坐骨神经轴突和髓鞘恢复情况良好。详见图5。

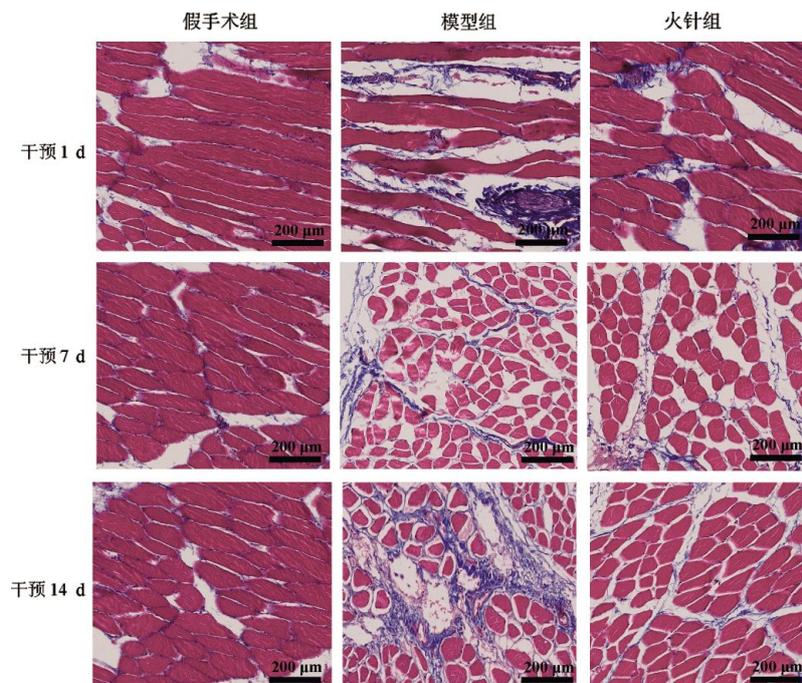


图4 各组大鼠各时间点腓肠肌 Masson 染色结果($\times 100$)

Fig.4 Masson staining results of the gastrocnemius muscle among different groups of rats at different time points ($\times 100$)

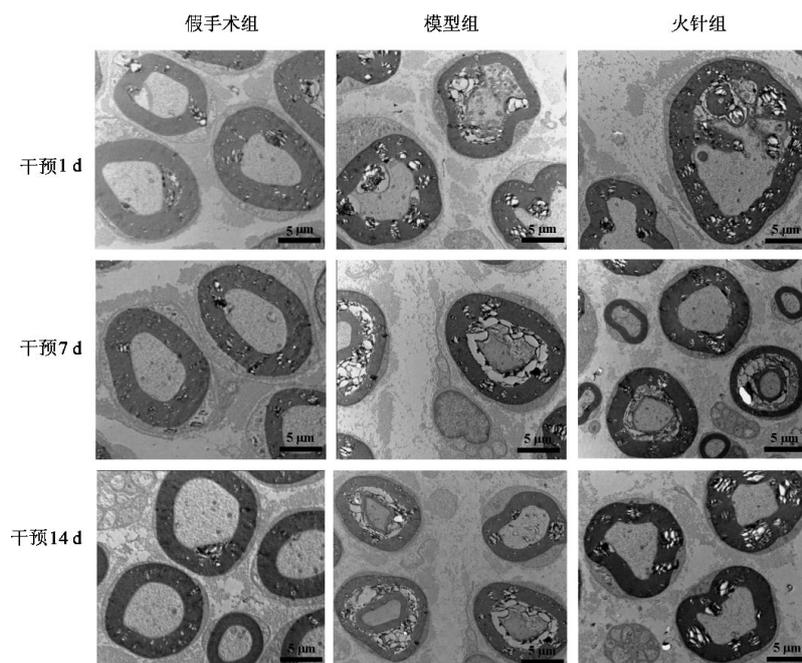


图5 各组大鼠各时间点坐骨神经超微结构(透射电镜, $\times 10\ 000$)

Fig.5 Ultrastructural images of the sciatic nerve among different groups of rats at different time points (transmission electron microscope, $\times 10\ 000$)

2.5 各组大鼠坐骨神经 MBP 蛋白表达比较

与假手术组相比,各时间点模型组坐骨神经MBP蛋白表达显著降低($P<0.01$);与模型组相比,干预1 d后火针组 MBP 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$),干预7、14 d后火针组 MBP 蛋白表达显著升高($P<0.01$)。与干预1 d后相比,干预7、14 d后火针组MBP蛋白表达升高($P<0.05, P<0.01$);与干预7 d后相比,干预14 d后火针组 MBP 蛋白表达升高($P<0.01$)。详见图6。

2.6 各组大鼠坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达比较

与假手术组相比,各时间点模型组大鼠坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达升高($P<0.05, P<0.01$)。与模型组相比,干预1 d后火针组大鼠坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达差异无统计学意义($P>0.05$),干预7、14 d后火针组大鼠坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达升高($P<0.05, P<0.01$)。与干预1 d后相比,干预7、14 d后火针组 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达升高($P<0.05, P<0.01$);与干预7 d后相比,干预14 d后火针组 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达升高($P<0.05, P<0.01$)。详见图7。

3 讨论

SNI 归属于中医学“痹证”“伤筋”等范畴,尤其与“经筋痹”“腰腿痛”“痿痹”等病症相关^[12-13]。其病

机主要为气血亏虚、筋脉失养,气血不足,则宗筋失养,纵缓不收,而见肌肉关节痿弱不用^[14]。故本病的治疗原则以温经通络、益气养血为主。

火针最早记载于《黄帝内经》,当时称之为“焮刺”“燔针”,在《灵枢·官针》中记载了使用火针治疗痹证的方法为“九曰焮刺,焮刺者,刺焮针则取痹也”。火针结合了针灸的针刺作用和温热刺激,能“以火之力、通经络”,激发经气,促使气血运行,疏通经络,从而缓解 SNI 导致的疼痛、麻木等不适症状^[15]。本研究以 PI3K/Akt/mTOR 信号通路这一细胞核心调控网络为切入点,初步探索了火针对 SNI 模型大鼠的神经修复作用。

SFI 是评估大鼠坐骨神经受损后运动功能恢复的金标准量化指标,可通过分析足印特征计算得出^[16]。本研究中,干预14 d后,火针组大鼠步态得到显著改善,SFI 评分显著升高,表明火针可以显著改善大鼠的运动功能。坐骨神经受损后累及胫神经,导致腓肠肌出现运动障碍、结构改变等情况,肌肉发生萎缩^[17]。本研究中,模型组大鼠腓肠肌湿重比在干预7、14 d后显著降低,腓肠肌出现明显萎缩,胶原纤维数量增加,表明模型构建成功。干预7、14 d后,火针组大鼠腓肠肌湿重比显著回升,肌肉萎缩程度改善,胶原纤维数量减少,且干预14 d后形态逐渐接近正常,表明火针干预后可以有效改善大鼠腓肠肌萎缩状态,恢复大鼠运动功能。

坐骨神经的髓神经纤维由轴索、髓鞘及神经膜

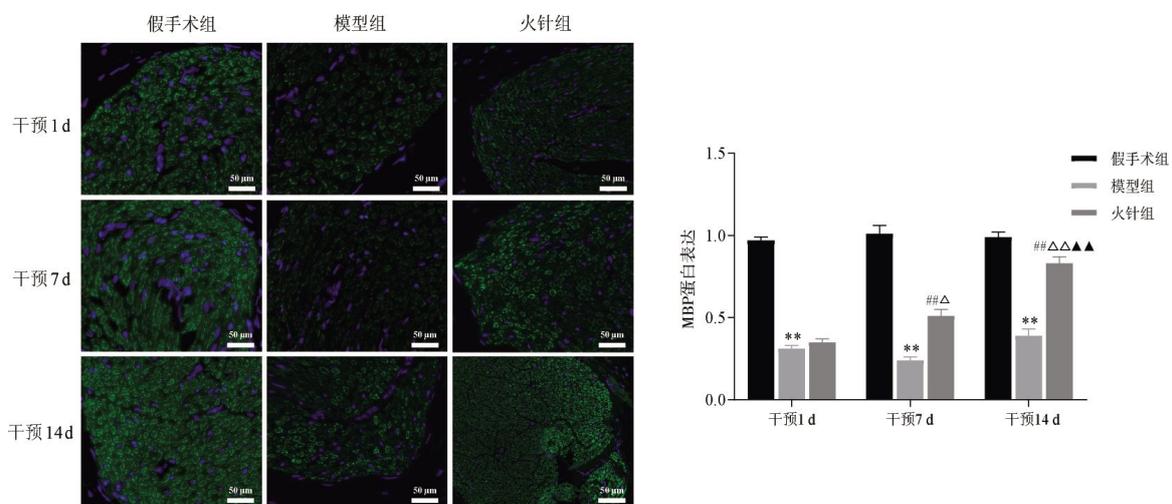


图6 各组大鼠各时间点坐骨神经 MBP 蛋白表达比较(免疫荧光, $n=3, \times 100$)

Fig.6 Comparison of MBP expressions in the sciatic nerve among different groups of rats at different time points (Immunofluorescence staining, $n=3, \times 100$)

注:与假手术组相比, ** $P<0.01$;与模型组相比, # $P<0.01$;与干预1 d相比, $\Delta P<0.05, \Delta\Delta P<0.01$;与干预7 d相比, $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$ 。

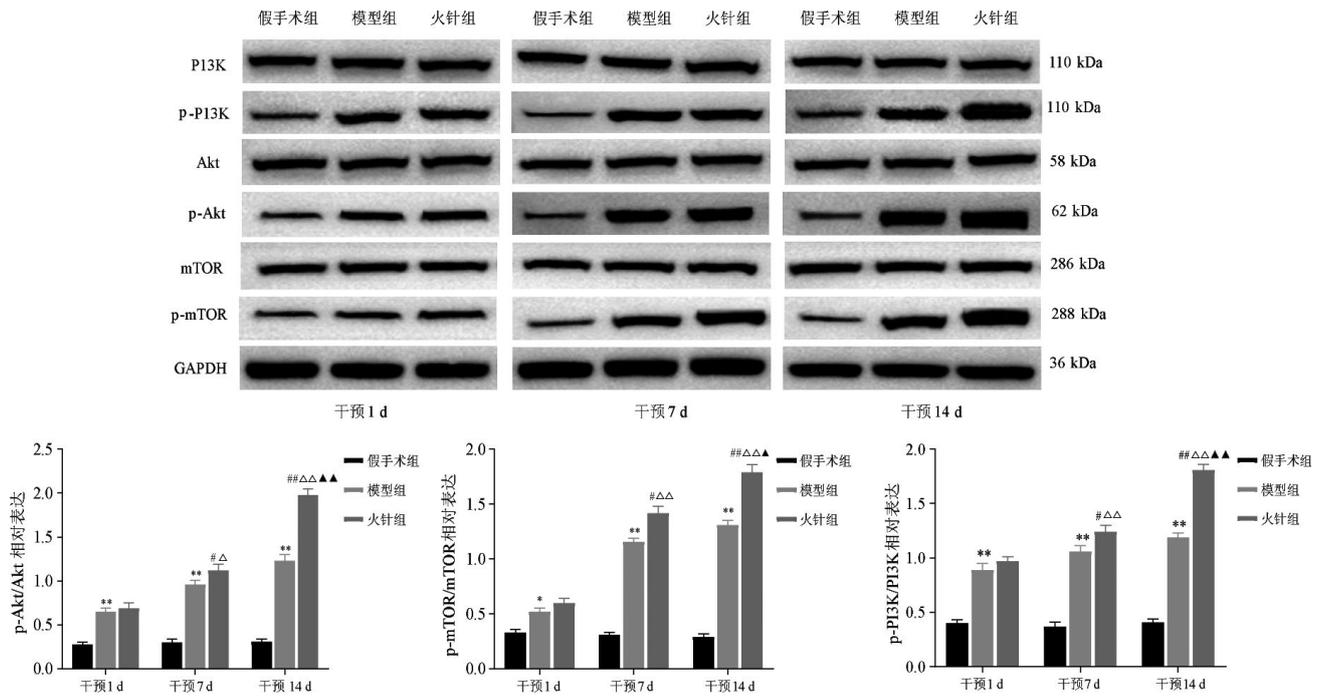


图 7 各组大鼠各时间点坐骨神经 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 相对表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig.7 Comparison of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-mTOR/mTOR protein expressions in the sciatic nerve among different groups of rats at different time points ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

注:与假手术组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与干预 1 d 相比,^ $P<0.05$,^^ $P<0.01$;与干预 7 d 相比,^ $P<0.05$,^ $\Delta P<0.01$ 。

细胞三部分构成,神经膜细胞的细胞膜多层包绕轴索形成髓鞘,呈明暗相间的板层状^[18]。MBP 蛋白是维持神经髓鞘结构稳定的关键蛋白,当坐骨神经受损时,髓鞘发生破坏,MBP 蛋白表达水平会相应降低^[19]。本研究中,透射电镜下模型组大鼠坐骨神经轴索膜与髓鞘板层最内层分离,髓鞘损伤变形,结构紊乱,同时免疫荧光结果显示模型组 MBP 蛋白表达显著降低。经火针干预 7、14 d 后,大鼠坐骨神经轴突和髓鞘逐渐恢复,出现大量新生髓鞘,神经纤维逐渐恢复正常,MBP 蛋白表达显著升高。这可能是由于坐骨神经损伤后,沃勒变性启动,施万细胞丢弃髓鞘碎片,破损髓鞘被巨噬细胞吞噬清除,因此,受损后 MBP 蛋白表达大幅降低^[20],而火针干预可以有效加速破损髓鞘清除进程,促进髓鞘新生,从而加速坐骨神经的修复进程。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路是调控周围神经损伤修复的核心分子枢纽,可通过协调神经元存活、轴突再生、施万细胞活化及髓鞘重塑,实现从细胞到组织的多层次修复^[21]。PI3K 作为一种胞内磷脂酰肌醇激酶,是调控多数生命活动的关键信号分子,同时也是 Akt 转位至细胞膜并实现活化的必要信号分子^[22]。Akt 是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,属于 AGC 激酶

家族,是 PI3K/Akt/mTOR 信号轴的核心枢纽^[23]。mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是 PI3K 相关激酶蛋白家族的成员,参与感知营养信号和调节细胞生长和增殖^[24]。当 PI3K 被激活后,PI3K 发生磷酸化,催化磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸转化为磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸,同时促进磷酸肌醇依赖性蛋白激酶-1 介导 Thr308 上的 Akt1 磷酸化和 mTORC2 诱导 Ser473 上的 Akt1 磷酸化,活化的 Akt 通过磷酸化大量下游蛋白质底物,将 mTORC1 募集到溶酶体进行活化,以此调控与细胞生长和增殖密切相关的蛋白质(如髓鞘碱性蛋白 MBP)的合成,影响细胞的增殖与分化^[25]。本实验结果显示,与模型组相比,干预 7、14 d 后火针组大鼠坐骨神经组织 PI3K、Akt 与 mTOR 蛋白磷酸化水平显著升高,表明火针干预可以有效激活受损坐骨神经中的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,其神经修复作用可能与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的进一步激活密切相关。

综上所述,火针干预可以有效促进坐骨神经损伤模型大鼠受损神经的修复,促进其运动功能恢复,其机制可能与激活 PI3K/Akt/mTOR 通路,促进髓鞘再生、神经纤维修复,改善腓肠肌萎缩有关。虽然本研究未使用特异性抑制剂进行阻断实验,但以下发

现为火针通过 PI3K/Akt/mTOR 通路发挥作用提供了有力支持:(1) 火针治疗后坐骨神经中 PI3K、Akt 和 mTOR 的磷酸化水平显著升高;(2)该通路的激活程度与坐骨神经髓鞘再生、髓鞘碱性蛋白 MBP 表达密切相关。这些结果共同支持 PI3K/Akt/mTOR 通路在火针治疗 SNI 中的关键作用。然而,由于实验技术条件等原因,本研究仅聚焦于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,未通过抑制剂实验进一步验证其必要性;且仅探究了火针干预 14 d 内的相关指标及症状变化,未能从研究时长延伸、多分子机制相互作用及多条信号通路交叉调控等维度展开全面探究。因此,火针通过多靶点、多途径协同改善 SNI 的神经修复与运动功能的具体机制,仍需进一步深入研究。

参考文献

- [1] WANG Q Q, WANG H, MA Y, et al. Effects of electroactive materials on nerve cell behaviors and applications in peripheral nerve repair[J]. *Biomaterials Science*, 2022, 10(21): 6061-6076.
- [2] 王 杰, 崔佳雯. 电针治疗坐骨神经损伤修复机制的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2023, 20(17): 53-56.
- [3] 胡安全, 冯祁军, 王正安, 等. 定向诱导为神经元样细胞的骨髓间充质干细胞对大鼠坐骨神经损伤的修复作用研究[J]. *中国医药导报*, 2021, 18(6): 27-33, 197.
- [4] 刘洛欣, 马秋玲, 吴 艺, 等. 中药单体调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路干预多发性骨髓瘤研究进展[J]. *陕西中医*, 2025, 46(3): 424-427.
- [5] ALGHAMDI S A, ALISSA M, ALGHAMDI A. mTOR signalling in arbovirus infections: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities[J]. *Reviews in Medical Virology*, 2025, 35(3): e70037.
- [6] 何 伟, 官菊梅, 唐 旭. 火针通过 TRPV1/PKC- δ /p-Akt 信号通路调节带状疱疹后神经痛大鼠痛觉敏化的机制研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2025, 45(7): 1271-1279.
- [7] 王玲姝, 张 宇, 李冠男, 等. 火针对坐骨神经损伤大鼠脂肪酸合酶基因启动子区 H3K27 乙酰化水平的影响[J]. *上海针灸杂志*, 2022, 41(11): 1133-1138.
- [8] 苗龙杰, 秦晓彬, 李 征, 等. 基于网络药理学和动物实验探讨黄酮类化合物对周围神经损伤的抗氧化作用机制[J]. *世界中西医结合杂志*, 2025, 20(11): 2193-2203.
- [9] 李忠仁. *实验针灸学*[M]. 2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255.
- [10] 何青璇, 赵 硕, 陈怡然, 等. 针刺环跳和委中对坐骨神经损伤大鼠 L4-L5 脊神经节雪旺细胞、NCAM 及 CNTF 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(8): 4947-4950.
- [11] 张丙祥, 李冠男, 梁 霄, 等. 针刺足三里、阳陵泉穴对坐骨神经损伤 Wistar 大鼠 NGF、BDNF 表达的影响[J]. *陕西中医*, 2024, 45(6): 751-756, 762.
- [12] 陈怡然, 马 雪, 赵洪毅, 等. 针刺环跳和委中穴对坐骨神经损伤大鼠 IL-1 β 、TNF- α 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(4): 1709-1713.
- [13] 董春力, 赵元廷, 曹 毅, 等. 芍药甘草汤联合神经松动术治疗腰椎间盘突出症合并坐骨神经痛疗效研究[J]. *陕西中医*, 2023, 44(9): 1245-1247.
- [14] 孙佳伟, 张英琦, 于天源, 等. “三法三穴”通过 Fas/FasL 信号通路抑制运动神经元凋亡改善 SNI 鼠运动功能的研究[J]. *长春中医药大学学报*, 2025, 41(1): 35-40.
- [15] 王 瑞, 杜 凯, 李忠正, 等. 火针治疗类风湿关节炎临床疗效 Meta 分析[J]. *上海针灸杂志*, 2025, 44(3): 296-303.
- [16] 漆景天, 张永光, 徐永君, 等. 吡非尼酮对大鼠坐骨神经损伤后神经再生和功能恢复的作用[J]. *武警医学*, 2025, 36(2): 124-128.
- [17] 田瑞敏, 牛 娜, 刘贤烽, 等. 正容汤含药血清化学成分及其对牛蛙离体坐骨神经-腓肠肌收缩的影响[J]. *中成药*, 2025, 47(1): 291-296.
- [18] 刘爱华, 冷锦红, 刘子英, 等. 加味桂枝茯苓汤通过 PINK1/Parkin 信号通路调控线粒体自噬途径减轻 PDPN 大鼠坐骨神经损伤的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(21): 42-51.
- [19] PAWELEC K M, YOON C, GIGER R J, et al. Engineering a platform for nerve regeneration with direct application to nerve repair technology[J]. *Biomaterials*, 2019, 216: 119263.
- [20] LI L X, XU Y Z, WANG X H, et al. Ascorbic acid accelerates Wallerian degeneration after peripheral nerve injury [J]. *Neural Regeneration Research*, 2021, 16(6): 1078-1085.
- [21] UTPAL B K, MOKHFI F Z, ZEHRABI M, et al. Resveratrol: A natural compound targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in neurological diseases [J]. *Molecular Neurobiology*, 2025, 62(5): 5579-5608.
- [22] XU F, NA L X, LI Y F, et al. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours [J]. *Cell & Bioscience*, 2020, 10(1): 54.
- [23] ZHANG M, ZHANG X Y. The role of PI3K/AKT/FOXO signaling in psoriasis [J]. *Archives of Dermatological Research*, 2019, 311(2): 83-91.
- [24] WEI X Y, LUO L F, CHEN J Z. Roles of mTOR signaling in tissue regeneration [J]. *Cells*, 2019, 8(9): 1075.
- [25] HEIMFARTH L, DELGADO J, MIGNORI M R, et al. Developmental neurotoxicity of the hippocampus following in utero exposure to methylmercury: Impairment in cell signaling [J]. *Archives of Toxicology*, 2018, 92(1): 513-527.

(本文编辑 匡静之)