

· 针灸推拿 ·

本文引用:郑慧娥,何灏龙,陈芯仪,田浩梅,陈楚淘.针刺对 CIRI 大鼠缺血侧海马区 miRNA 表达及 miR-20a-5p 和 miR-22-5p 的影响[J].湖南中医药大学学报,2020,40(10):1226-1231.

针刺对 CIRI 大鼠缺血侧海马区 miRNA 表达及 miR-20a-5p 和 miR-22-5p 的影响

郑慧娥,何灏龙,陈芯仪,田浩梅,陈楚淘*

(湖南中医药大学针灸推拿学院,湖南 长沙 410208)

[摘要] **目的** 观察针刺对脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI) 大鼠缺血侧海马区 miRNA 表达及 miR-20a-5p 和 miR-22-5p 的影响,以探究针刺修复 CIRI 的可能机制。**方法** 60 只大鼠采用随机数字表法分成正常组、假手术组(Sham 组)、CIRI 组及 CIRI+针刺组,每组 15 只。CIRI 组及 CIRI+针刺组参照优化版 Zea Longa 线栓法复制大鼠中动脉缺血再灌注模型;Sham 组只插入线栓不阻断中动脉。Sham 组及 CIRI 组造模后不予针刺,CIRI+针刺组造模后于人中、百会、大椎穴予针刺干预,正常组不予任何处理。分别于治疗前后行神经功能症状缺损评分观察大鼠神经症状变化;治疗后,采用 TTC 染色检测脑梗死面积比;基因芯片技术检测 CIRI 大鼠缺血侧海马区 miRNA 表达;qPCR 检测 CIRI 大鼠缺血侧 miR-20a-5p、miR-22-5p 的表达量。**结果** (1)与治疗前比较,治疗后 CIRI+针刺组的神经功能症状缺损评分显著下降($P<0.01$),其余各组差异均无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,与正常组及 Sham 组比较,CIRI 组及 CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分及脑梗死面积比均显著升高($P<0.01$);与 CIRI 组比较,CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分及脑梗死面积比明显下降($P<0.05$)。(2)基因芯片检测结果显示,与正常组比较,CIRI 组差异表达 4 个 miRNA,且其中 2 个参与调控细胞增殖、3 个参与调控细胞凋亡;与 Sham 组比较,CIRI 组差异表达 5 个 miRNA,且其中 3 个参与调控细胞增殖、1 个参与调控细胞凋亡;与 CIRI 组比较,CIRI+针刺组差异表达 16 个 miRNA,且其中 12 个参与调控细胞增殖、10 个参与调控细胞凋亡。CIRI+针刺组与 CIRI 组改变了相同功用的 miRNA,其中包括 miR-20a-5p 和 miR-22-5p。(3)qPCR 结果示,与正常组比较,CIRI 组 miR-20a-5p 表达增加($P<0.01$)、miR-22-5p 表达降低($P<0.01$);与 Sham 组比较,CIRI 组 miR-20a-5p 表达增加($P<0.01$)、miR-22-5p 表达降低($P<0.05$);与 CIRI 组比较,CIRI+针刺组 miR-20a-5p 表达降低($P<0.01$)、miR-22-5p 表达增加($P<0.05$)。**结论** 针刺能明显改善 CIRI 大鼠神经功能症状缺损评分及脑梗死面积比,促进脑缺血再灌注后修复,其机制可能与激发多种类、多功能 miRNA 的改变,特别是与下调 miR-20a-5p、上调 miR-22-5p 的表达量,促进细胞增殖、抑制细胞凋亡功能相关。

[关键词] 脑缺血再灌注损伤;针刺;miRNA;miR-20a-5p;miR-22-5p

[中图分类号] R245;R246.1

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.10.010

Effects of Acupuncture on Expression of miRNA, miR-20a-5p and miR-22-5p in the Ischemic Hippocampus of Rats with CIRI

ZHENG Huie, HE Haolong, CHEN Xinyi, TIAN Haomei, CHEN Chutao*

(College of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effects of acupuncture on expression of miRNA, miR-20a-5p and miR-22-5p in the ischemic hippocampus of rats with cerebral ischemia reperfusion injury (CIRI), and to explore the possible mechanism of acupuncture in repairing CIRI. **Methods** A total of 60 rats were divided into a normal group, a sham operation group (sham group),

[收稿日期] 2020-04-03

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81874508,81303051);湖南省自然科学基金项目(2016JJ3101);湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划(2017-287);湖南省中医药管理局课题(201961)。

[作者简介] 郑慧娥,女,在读硕士研究生,研究方向:针灸推拿临床应用及机制研究。

[通讯作者] * 陈楚淘,男,博士,副教授,硕士研究生导师,E-mail:314587702@qq.com。

a CIRI group and a CIRI+acupuncture group by random number table, with 15 rats in each group. The CIRI group and the CIRI+acupuncture group established CIRI model by referring to reformed Zea Longa suture-occluded method; and line was inserted without blocking the middle artery in the sham group. The sham group and the CIRI group received no acupuncture treatment after modeling. The CIRI+acupuncture group received acupuncture at Renzhong (GV26), Baihui (GV20) and Dazhui (GV14). The normal group did not receive any treatment. The neurological deficit scores were performed before and after treatment to observe the changes in neurological symptoms in rats; after treatment, TTC staining was used to detect the ratio of cerebral infarction area; gene chip technology was used to detect miRNA expression in the hippocampus of the ischemic side of CIRI rats; qPCR was used to detect the expression of miR-20a-5p and miR-22-5p on the ischemic side of CIRI rats. **Results** (1) Compared with before treatment, the neurological deficit score of the CIRI+acupuncture group decreased significantly after treatment ($P<0.01$), and the difference in the other groups was not statistically significant ($P>0.05$). After treatment, compared with the normal group and the sham group, the neurological deficit score and the cerebral infarction area ratio in the CIRI group and the CIRI+acupuncture group were significantly increased ($P<0.01$); compared with the CIRI group, the neurological symptoms defect score and cerebral infarction area ratio of the CIRI+acupuncture group decreased significantly ($P<0.05$). (2) The gene chip test results showed that compared with the normal group, the CIRI group differentially expressed 4 miRNAs. 2 were involved in regulating cell proliferation, and 3 were involved in regulating cell apoptosis; compared with the sham group, the CIRI group differentially expressed 5 miRNAs. 3 were involved in regulating cell proliferation, 2 were involved in regulating inflammation and 1 was involved in regulating cell apoptosis, gene expression, axon extension and neuron differentiation; Compared with CIRI group, the CIRI+acupuncture group has differential expression of 16 miRNAs. 12 were involved in regulating cell proliferation, 10 were involved in regulating cell apoptosis. The CIRI+acupuncture group and the CIRI group changed miRNAs with the same function, including miR-20a-5p and miR-22-5p. (3) qPCR results showed that the expression of miR-20a-5p in the CIRI group increased compared with the normal group ($P<0.01$), and the expression of miR-22-5p decreased ($P<0.01$); compared with the sham group, the expression of miR-20a-5p increased ($P<0.01$), and the expression of miR-22-5p decreased ($P<0.05$) in the CIRI group; Compared with the CIRI group, the expression of miR-20a-5p in the CIRI+acupuncture group decreased ($P<0.01$), and the expression of miR-22-5p increased ($P<0.05$). **Conclusion** Acupuncture can significantly improve the neurological deficit score and cerebral infarction area ratio in CIRI rats, and promote the repair of cerebral ischemia-reperfusion. The mechanism may be related to stimulating the changes of various and multifunctional miRNAs, especially the down-regulating miR-20a-5p, up-regulating the expression of miR-22-5p is related to promoting cell proliferation and inhibiting apoptosis.

[**Keywords**] cerebral ischemia reperfusion injury; acupuncture; miRNA; miR-20a-5p; miR-22-5p

脑血管病又称脑中风、脑卒中等,已成为全球主要致残致死原因之一,主要分为出血性脑血管病和缺血性脑血管病,其中缺血性脑血管病的发病率可高达80%左右^[1]。临床上应对缺血性脑血管病的常用手段即在时间窗内及时溶栓以期恢复缺血区域的血流再灌注,控制梗死范围^[2]。而血流的再灌注如同一把双刃剑,在控制梗死范围持续扩大的同时,也势必引起一系列病理级联反应,恶化缺血半影区,造成脑组织水肿、神经元损伤等^[3],此即脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI)。因此,探究控制 CIRI 的治疗方法及治疗靶点对提高缺血性脑卒中的救治将有重大意义。研究发现,miRNA

可调控 CIRI 的相关机制,如神经发生、炎症反应、氧化应激、脑水肿形成及细胞凋亡等^[4],可见 miRNA 对 CIRI 病理进程影响重大。近年来,针刺调控 CIRI 伤方面卓有成效,但主要是围绕干预神经血管再生、氧化应激损伤、细胞凋亡、细胞自噬及炎性因子等方面展开研究^[5-7],而从基因层面整体综合探讨针刺抗 CIRI 机制鲜见报道。

故本研究拟以 miRNA 为视角,观察针刺对 CIRI 大鼠神经功能、脑梗死面积比及脑组织海马区 miRNA 的影响,探究针刺促 CIRI 修复的作用机制,以期丰富针刺调控 CIRI 机制,为中医针灸临床、教学等提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

SPF级雄性SD大鼠60只,体质量250~280 g。于湖南斯莱克景达实验动物有限公司购买,合格证号:SCXK(湘)2013-0004。饲养于湖南中医药大学实验动物中心,饲养条件:室温22~25℃,湿度60%左右,12 h:12 h的昼夜交替周期。予自由进食进水适应性饲养7 d后,参照随机数字表随机分为正常组、假手术组(Sham组)、CIRI组、CIRI+针刺组,共4组,每组15只。

1.2 主要试剂和仪器

华佗牌0.30 mm×25 mm无菌针灸针(苏州医疗用品厂有限公司);线栓(北京西浓科技有限公司);水合氯醛(天津科密欧化学试剂公司);青霉素(江西科达动物药业有限公司);TTC溶液(江苏维尔生物科技有限公司);多聚甲醛(江苏维尔生物科技有限公司);miRCURYTM芯片标记试剂盒(丹麦Exiqon公司);miRNAs芯片(丹麦Exiqon公司);BL-2000图象分析(上海康为医疗科技发展有限公司);Genepix 4000B扫描仪(美国Affymetrix公司);引物(上海生工生物工程技术有限公司);逆转录试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司);SYBR-GREEN PCR Mix(美国Applied Biosystems公司)。

1.3 动物模型制备与评定标准

参照改良版Zea Longa^[8]线栓法复制大脑中动脉缺血再灌注损伤模型。除正常组外,其余大鼠均于造模前12 h禁食不禁水。

造模组(CIRI组及CIRI+针刺组)予10%现配水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉,大鼠取仰卧位绑定至鼠板,备皮消毒沿颈部正中做约1~2 cm纵行切口,逐层分离皮下组织,沿胸锁乳突肌内侧缘分离右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA),颈内动脉(internal carotid artery, ICA)及颈外动脉(external carotid artery, ECA),鱼线结扎CCA及ECA近心端,于CCA远心端(距分叉口约1 cm左右)用眼科剪做微小切口并沿ICA方向插入线栓直至线栓黑色标记至分叉口并感受阻力即可,然后永久结扎右侧ICA以防止线栓脱落,伤口处用青霉素粉处理并缝合。2 h后小心取出线栓约1 cm,即完成CIRI模型制备,行神经功能症状缺损评分。Sham组所有步骤同前,线栓只插入但不阻断大脑中动脉。术后单笼饲养并保温,自然清醒后,待生命体征稳定,所有大鼠行神经功能症状缺损评分。

模型成功评定标准^[9]:未见神经功能缺损症状为0分;提尾时,大鼠病灶对侧上肢向胸前内侧屈曲为1分;行走时,大鼠向病灶对侧转圈为2分;行走时,大鼠向病灶对侧倾倒入为3分;无自发行走或意识丧失为4分。评分为1~3分者视为模型制备成功,未成功者按相同造模方法补足造模大鼠数量。

1.4 干预方法

所有大鼠于缺血再灌注2 h后进行相应干预,具体如下:正常组不予处理;Sham组及CIRI组于鼠板上固定大鼠四肢30 min,每12 h/次,不针刺;CIRI+针刺组于鼠板上固定大鼠四肢后,参照《实验针灸学》^[10]于人中、百会、大椎穴行针刺,每12 h/次,共6次。

1.5 指标检测

1.5.1 神经功能症状缺损评分 分别于模型制备完成后、针刺治疗对大鼠进行神经功能症状缺损评分。

1.5.2 脑梗死面积比检测 于每组随机选取5只大鼠麻醉后取材(全脑)、冲洗,冰冻30 min后切片,避光染色15~30 min,多聚甲醛固定,进行肉眼观察及数码相机拍片,应用image pro plus 6.0测量脑梗死面积,并参照Swanson法^[11]校正梗死面积并计算梗死面积百分比(IS%)。

计算公式:IS%=(SI-Sr)/2SI×100%(SI:脑片健侧总面积;Sr:患侧非梗死面积)

1.5.3 基因芯片检测 于每组随机选取5只大鼠麻醉后取材(患侧海马组织),分离、标记及浓缩microRNA,microRNA芯片杂交,最后进行图像扫描并分析。

1.5.4 qPCR检测 于每组随机选取5只大鼠麻醉后取材(患侧海马组织)进行RNA提取及反转录、qPCR检测。

1.6 统计方法

应用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析。数据不服从正态分布,采用非参数检验,以中位数(四分位间距)[M(Q)]表示,服从正态分布,以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,方差齐者用单因素方差分析,两两比较LSD法;方差不齐用Tamhane's T2法。组内自身前后比较:正态分布则使用配对t检验;否则使用配对秩和检验。

2 结果

2.1 针刺对CIRI大鼠神经功能症状缺损评分的影响

治疗前,与正常组比较,Sham组神经功能症状缺损评分差异无统计学意义($P>0.05$),CIRI组及

CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分显著上升($P<0.01$);与 Sham 组比较,CIRI 组及 CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分显著上升($P<0.01$);与 CIRI 组比较,CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,与正常组比较,Sham 组神经功能症状缺损评分差异无统计学意义($P>0.05$),CIRI 组及 CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分显著上升($P<0.01$);与 Sham 组比较,CIRI 组及 CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分显著上升($P<0.01$);与 CIRI 组比较,CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分明显下降($P<0.05$)。与治疗前比较,正常组、Sham 组及 CIRI 组的神经功能症状缺损评分差异均无统计学意义($P>0.05$);而 CIRI+针刺组神经功能症状缺损评分显著下降($P<0.01$)。详见表 1。

表 1 针刺对 CIRI 大鼠神经功能症状缺损评分的影响

组别	n	治疗前	治疗后
正常组	15	0.0(0.0)	0.0(0.0)
Sham 组	15	0.0(0.0)	0.0(0.0)
CIRI 组	15	1.5(1.0)***	1.5(1.0)***
CIRI+针刺组	15	1.4(1.0)***	0.8(0.0)***▲

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与 Sham 组比较,*** $P<0.01$;与 CIRI 组比较,[§] $P<0.05$;与治疗前比较,▲ $P<0.01$

2.2 针刺对 CIRI 大鼠脑梗死面积比的影响

与正常组比较,Sham 组脑梗死面积比差异无统计学意义($P>0.05$),CIRI 组及 CIRI+针刺组脑梗死面积比显著增大($P<0.01$);与 Sham 组比较,CIRI 组及 CIRI+针刺组脑梗死面积比显著增大($P<0.01$);与 CIRI 组比较,CIRI+针刺组脑梗死面积比明显缩小($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 针刺对 CIRI 大鼠脑梗死面积比的影响[M(Q)]

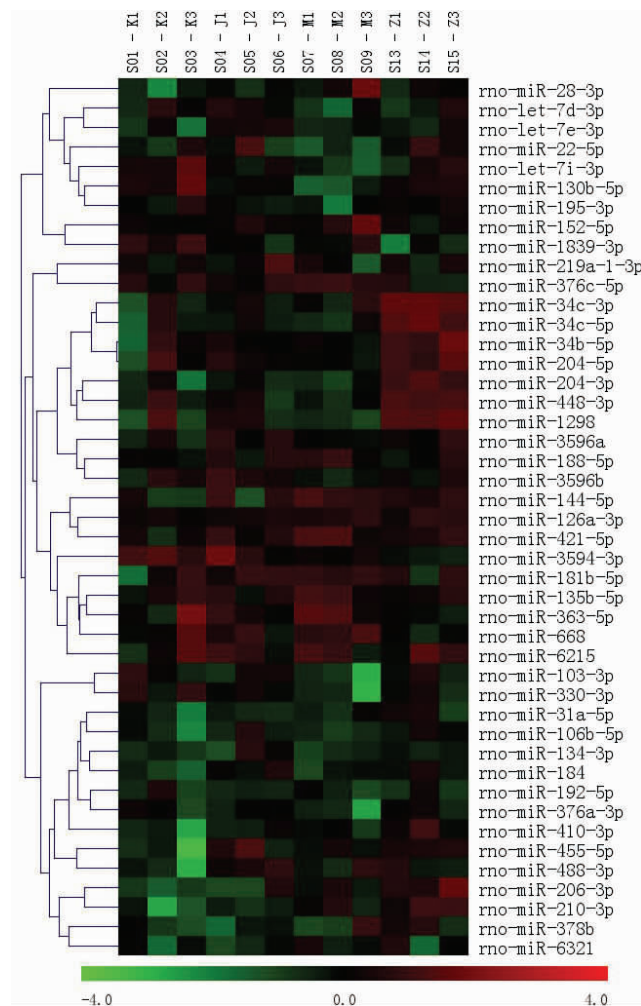
组别	n	脑梗死面积比
正常组	5	0.00(0.00)
Sham 组	5	0.00(0.00)
CIRI 组	5	33.46(9.00)***
CIRI+针刺组	5	19.79(18.18)*** [§]

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与 Sham 组比较,*** $P<0.01$;与 CIRI 组比较,[§] $P<0.05$

2.3 针刺对 CIRI 大鼠缺血侧海马区 miRNA 表达的影响

2.3.1 miRNA 表达谱 每组随机筛选 3 个样本,进行每两组间的差异 miRNA 筛选,计算每个 miRNA 的显著性水平($P<0.05$)。经组间两两比较共发现 62

个差异 miRNA,归并同种类 miRNA,其聚类分析图见图 1。



注:纵坐标为各差异 miRNA,横坐标为各样本组织(K.空白组;J.sham 组;M.CIRI 组;Z.CIRI+针刺组);绿色荧光为 miRNA 低表达,红色荧光为 miRNA 高表达

图 1 差异 miRNA 聚类分析图

2.3.2 差异表达 miRNA 的种类 与正常组比较,CIRI 组差异表达 4 个 miRNA,分别是 rno-miR-137-3p,rno-miR-136-3p,rno-miR-20a-5p 及 rno-miR-338-5p;与 Sham 组比较,CIRI 组差异表达 5 个 miRNA,分别是 rno-miR-344b-1-3p、rno-miR-383-5p、rno-miR-331-3p、rno-miR-323-3p 及 rno-let-7d-5p;与 CIRI 组比较,CIRI+针刺组差异表达 16 个 miRNA,分别是 rno-miR-22-5p、rno-miR-106b-5p、rno-miR-34c-5p、rno-miR-376c-5p、rno-miR-34c-3p、rno-miR-204-5p、rno-miR-1298、rno-miR-34b-3p、rno-miR-378a-3p、rno-miR-7a-5p、rno-miR-539-3p、rno-miR-130a-3p、rno-miR-331-3p、rno-let-7f-5p、rno-let-7d-5p、rno-let-7i-5p。

2.3.3 差异表达 miRNA 的功用 与正常组比,CIRI

组 2 个差异 miRNA 具有调节细胞增殖功能,3 个差异 miRNA 具有调节细胞凋亡功能;与 CIRI 组比, CIRI+针刺组多数差异表达 miRNA 涉及调控细胞增殖及细胞凋亡功能,具体表现为:12 个差异 miRNA 可调控细胞增殖,10 个差异 miRNA 可调控细胞凋亡,6 个差异 miRNA 可调控炎症反应,5 个差异 miRNA 可调控基因表达,均有 3 个差异 miRNA 可调控基因表达及神经元分化。且 CIRI 组与 CIRI+针刺组均促使具有调控细胞增殖及细胞凋亡功用的 miRNA 发生差异表达,其中 CIRI+针刺组具有上述两种功用的差异 miRNA 增加更为明显。详见表 3。

表 3 各组间差异 miRNA 的种类比较分析

miRNA 功能	CIRI 组		相同功能差异 miRNA
	与正常组比较	与 CIRI+针刺组比较	
细胞增殖	2	12	2
细胞凋亡	3	10	3
基因表达	0	5	0
神经元分化	0	3	0
轴突延伸	0	3	0
炎症反应	0	6	0

2.4 针刺对 CIRI 大鼠缺血侧海马区 miR-20a-5p 和 miR-22-5p 的影响

与正常组比较,Sham 组 miR-20a-5p 及 miR-22-5p 的表达差异无统计学意义 ($P>0.05$),CIRI 组 miR-20a-5p 的表达显著上调 ($P<0.01$),miR-22-5p 的表达显著下调 ($P<0.01$);与 Sham 组比较,CIRI 组 miR-20a-5p 的表达显著上调 ($P<0.01$),miR-22-5p 的表达明显下调 ($P<0.05$);与 CIRI 组比较,CIRI+针刺组 miR-20a-5p 的表达显著下调 ($P<0.01$),miR-22-5p 的表达明显上调 ($P<0.05$)。详见表 4。

表 4 针刺对 CIRI 大鼠缺血侧海马区 miR-20a-5p 和 miR-22-5p 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	miR-20a-5p	miR-22-5p
正常组	5	0.67±0.04	0.89±0.19
Sham 组	5	0.71±0.11	0.69±0.18
CIRI 组	5	1.09±0.15***	0.41±0.11***
CIRI+针刺组	5	0.73±0.21 ^{##}	0.73±0.21 ^{##}

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与 Sham 组比较,* $P<0.01$,^{##} $P<0.01$;与 CIRI 组比较,^{##} $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

3 讨论

脑缺血再灌注从多方面、多水平危及人们的健康及生命安全。而现代医学研究也试从多个方面研

究 CIRI 的治疗机制,既包括宏观结构的构建,如改善脑水肿情况、重建新生血管等^[11-12],也包括微观分子水平的调节,如细胞凋亡蛋白分子、炎症因子等的调节^[13-14]。作为内源性 RNA,miRNA 通过降解或抑制蛋白翻译过程进而使蛋白功能缺失。miRNA 广泛分布于中枢神经系统中^[15],与 CIRI 病情发展息息相关^[16]。而针刺促 CIRI 修复机制丰富且疗效明确^[17]。近年来,不少研究发现针刺同样会对 miRNA 的表达产生影响。如柳维林^[18]研究发现,电针可以干预 miR-219a 的表达,从而改变相关记忆蛋白合成情况。

本实验研究结果表明,CIRI 后,大鼠神经功能缺损评分及脑梗死面积比明显升高,提示模型制备成功;同时针刺人中、百会、大椎穴可明显降低大鼠神经功能缺损评分及脑梗死面积比,提示针刺可改善 CIRI 大鼠神经功能症状及脑梗死面积。本次研究还发现 CIRI 后,有 4 个 miRNA 差异表达且涉及细胞增殖和细胞凋亡两项功用,证明 miRNA 在此过程中扮演了重要角色,且主要涉及细胞增殖和细胞凋亡功用的改变;而针刺人中、百会、大椎穴后,与 CIRI 组比,CIRI+针刺组差异表达 16 个 miRNA,其功能除包括调控细胞增殖、细胞凋亡外,还涉及调节炎症反应、基因表达、神经元分化及轴突延伸等多种作用;此外,CIRI 组与 CIRI+针刺组均促使了具有调节细胞增殖及细胞凋亡功用的 miRNA 差异表达,并且根据表 3 结果,CIRI+针刺组可激发更多具有调控细胞增殖和细胞凋亡作用的 miRNA 发生差异表达。以上结果提示针刺从多层面、多系统抗 CIRI 作用主要与针刺激发具有调控细胞增殖及细胞凋亡功用的 miRNA 差异表达相关,这与相关研究结果也是一致的,针刺督脉穴位影响细胞增殖、细胞凋亡及炎症因子表达等对 CIRI 具有重要调节作用^[19-21]。

miRNA 稳定存在于血循环中,其表达量随着机体病理生理变化而发生改变^[22]。miR-20a-5p 作为 miR-17 家族成员之一,缺氧/复氧的环境可促使 miR-20a-5p 表达上调,抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,从而加重脑组织损伤^[23-24]。miR-22-5p 被认为是心肌梗死的重要标志物,有研究发现其在脑缺血后 2 h 表达明显下调^[25-26]。本研究基于 miRNA 功用的分析和 miRNA 芯片检测高表达量,选取 miR-20a-5p 和 miR-22-5p 进行论证实验。与正常组比较,CIRI 组 miR-20a-5p 的表达量显著上调,miR-22-5p 的表达量显著下调,说明脑缺血再灌注后 miR-20a-5p 的高表达与 miR-22-5p 的低表达与脑组织损伤有关。而针

刺人中、百会、大椎穴后,与 CIRI 组比,CIRI+针刺组 miR-20a-5p 表达量降低,miR-22-5p 表达量增高,说明针刺 CIRI 大鼠可下调 miR-20a-5p 及上调 miR-22-5p 的表达,使二者发挥益于受损组织恢复功能,从而促进脑组织梗死灶缩小、神经功能症状改善。

综上所述,针刺人中、百会、大椎穴能明显改善 CIRI 大鼠的神经功能评分及脑梗死面积比,促 CIRI 后修复,其机制或与激发多种类、多功能 miRNA 的改变,特别是与下调 miR-20a-5p、上调 miR-22-5p 的表达量促进细胞增殖、抑制细胞凋亡的有关。

参考文献

- [1] LIU Q, ZHANG Y. PRDX1 enhances cerebral ischemia-reperfusion injury through activation of TLR4-regulated inflammation and apoptosis[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 519(3): 453-461.
- [2] 陈玉敏,陈涛平,冯浩楼.脑缺血再灌注损伤机制与治疗现状[J]. *医学研究与教育*,2012,29(6):47-54.
- [3] ARONOWSKI J, STRONG R, GROTTA J C. Reperfusion injury: Demonstration of brain damage produced by reperfusion after transient focal ischemia in rats[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1997, 17 (10): 1048-1056.
- [4] 李 强,王洪新.微小 RNA 与脑缺血再灌注损伤机制的研究进展[J]. *中国城乡企业卫生*,2018,33(2):30-32.
- [5] 黄亚光,陶 薇,王金凤,等.针刺调控自噬保护脑缺血再灌注损伤的研究进展[J]. *针刺研究*,2019,44(6):459-464.
- [6] 郎丰山,黄云霞,薛 云,等.脑缺血再灌注损伤病理生理机制研究进展[J]. *食品与药品*,2018,20(4):312-316.
- [7] 李超然,刘德柱,蒋希成.近 10 年针刺干预脑缺血再灌注损伤分子机制研究概况[J]. *中华中医药杂志*,2018,33(8):3526-3528.
- [8] 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.
- [9] 蒋素容,武姿含,高音来,等.针刺大椎、百会、人中穴对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 p-VEGF 蛋白表达的影响[J]. *湖南中医药大学学报*,2018,38(11):1262-1266.
- [10] 李忠仁. *实验针灸学*[M].北京:中国中医药出版社,2007:1-314.
- [11] SWANSON R A, MORTON M T, TSAO-WU G, et al. A semiautomated method for measuring brain infarct volume [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 1990, 10(2): 290-293.
- [12] 曹小雨,杨秀芬.微 RNAs 与脑缺血/再灌注损伤的关系及其机制影响的研究进展[J]. *医学综述*,2016,22(16):3128-3133.
- [13] 肖 姮,阳仁达,田浩梅,等.针刺联合亚低温对脑缺血/再灌注损伤大鼠 Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. *湖南中医药大学学报*,2016,36(2):58-61.
- [14] 余 颜,胡雨琴,张 荆,等.细胞焦亡参与脑缺血再灌注损伤的初步研究[J]. *中国病理生理杂志*,2019,35(8):1379-1386.
- [15] DHARAP A, BOWEN K, PLACE R, et al. Transient focal ischemia induces extensive temporal changes in rat cerebral microRNAome [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2009, 29(4): 675-687.
- [16] YUAN Y, WANG J Y, XU L Y, et al. MicroRNA expression changes in the hippocampi of rats subjected to global ischemia[J]. *Journal of Clinical Neuroscience: Official Journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 2010, 17(6): 774-778.
- [17] 李超然,刘德柱,高丽娟,等.针刺防治脑缺血再灌注损伤作用机制研究进展[J]. *中国中医药信息杂志*,2018,25(8):133-136.
- [18] 柳维林.基于 miRNAs 介导突触可塑性探讨电针改善缺血性脑卒中模型大鼠学习记忆功能的作用机制[D].福州:福建中医药大学,2017.
- [19] 许宏武.针刺督脉经穴和夹脊穴对脊髓损伤大鼠神经干细胞的作用[D].汕头:汕头大学,2007.
- [20] 任贞贞.脑缺血再灌注模型大鼠电针干预后脑区炎症因子 IL-1 β 、ICAM-1 变化研究[D].北京:北京中医药大学,2014.
- [21] 颜 虹.针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 Ng2 表达的影响及机制研究[D].长沙:湖南中医药大学,2018.
- [22] 王振杰,谷诗浓,刘毓佳,等.血清 miR-191-5p 和 miR-20a-5p 联合作为脑卒中后认知功能障碍诊断标志物的研究[J]. *实用医学杂志*,2020,36(5):593-596,601.
- [23] BEVERIDGE N J, TOONEY P A, CARROLL A P, et al. Down-regulation of miR-17 family expression in response to retinoic acid induced neuronal differentiation[J]. *Cellular Signalling*, 2009, 21(12): 1837-1845.
- [24] 王 旋.miR-20a-5p 在缺氧/复氧诱导的肝细胞损伤中的作用及机制研究[D].上海:第二军医大学,2017.
- [25] WANG Y, CHANG W G, ZHANG Y, et al. Circulating miR-22-5p and miR-122-5p are promising novel biomarkers for diagnosis of acute myocardial infarction[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(4): 4778-4786.
- [26] 罗秀梅,刘亮丽,王 伟,等.大鼠血浆外泌体源性 miR-22-5p 在短暂性脑缺血中的表达变化及其作为诊断标志物的研究[J]. *心血管外科杂志(电子版)*,2019,8(1):46-47.