

本文引用:宋伯骥,张亚兰,王乾娜,贺煜竣,杨凌毓,付磊,刘未艾. 针刺风池、外关、阳陵泉对偏头痛模型大鼠 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(9): 1350-1355.

针刺风池、外关、阳陵泉对偏头痛模型大鼠 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的影响

宋伯骥¹, 张亚兰², 王乾娜², 贺煜竣², 杨凌毓², 付磊^{2*}, 刘未艾^{2*}

(1.南昌大学第一附属医院推拿科,江西 南昌 330200;2.湖南中医药大学第二附属医院,湖南 长沙 410005)

[摘要] **目的** 观察针刺风池、外关、阳陵泉对硝酸甘油(NTG)诱导的偏头痛(ME)大鼠核因子- κ B(NF- κ B)P65、I κ B 激酶(IKK) β 、NF- κ B 抑制蛋白(I κ B) α 的影响,探讨针刺治疗 ME 可能的作用机制。**方法** 将 40 只 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、针刺组、西药组,每组 10 只。空白组不做任何处理;模型组采用皮下注射 NTG 造模;针刺组造模后给予针刺风池、外关、阳陵泉干预治疗 8 d;西药组造模后给予盐酸氟桂利嗪药液灌胃干预治疗 8 d。观察并记录各组大鼠造模前、造模后、治疗后的行为学变化以及 50%机械缩足阈值(PWT);采用蛋白免疫印迹(WB)法检测各组大鼠脑膜 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的蛋白表达;反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测各组大鼠三叉神经脊束核 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的 mRNA 表达。**结果** (1)造模后,除空白组外其余 3 组大鼠均出现耳红、咬尾、爬笼等行为,行为学评分增加,50% PWT 降低($P<0.01$),表明造模成功。(2)造模后,与空白组比较,模型组大鼠行为学的评分均明显升高($P<0.01$);治疗后,与模型组比较,针刺组和西药组行为学评分明显降低($P<0.01$);与西药组比较,针刺组差异不明显($P>0.05$)。(3)造模后,与空白组比较,其余 3 组大鼠 50% PWT 均显著降低($P<0.01$);治疗后,与模型组比较,针刺组和西药组 50% PWT 明显升高($P<0.01$);与西药组比较,针刺组差异不明显($P>0.05$)。(4)与空白组比较,模型组 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的蛋白含量明显升高($P<0.01$);与模型组比较,针刺组与西药组 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的蛋白含量明显降低($P<0.01$),其中针刺组与西药组差异无统计学意义($P>0.05$)。(5)与空白组比较,模型组 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的 mRNA 表达明显升高($P<0.01$);与模型组比较,针刺组与西药组 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的 mRNA 表达明显降低($P<0.01$),其中针刺组与西药组差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 针刺风池、外关、阳陵泉能够减轻 ME 大鼠的疼痛程度,有效下调脑膜及三叉神经脊束核中 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的蛋白含量与基因表达,这可能是针刺风池、外关、阳陵泉治疗 ME 的机制之一。

[关键词] 偏头痛;针刺;风池;外关;阳陵泉;NF- κ B;IKK β ;I κ B α

[中图分类号] R245

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.09.007

Effect of Acupuncture at “Fengchi” (GB20), “Waiguan” (SJ5) and “Yanglingquan” (GB34) on NF- κ B P65, IKK β , I κ B α in Migraine Rats

SONG Boqi¹, ZHANG Yalan², WANG Qianna², HE Yujun², YANG Lingyu², FU Lei^{2*}, LIU Weiai^{2*}

(1. The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330200, China;

2. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effects of acupuncture at “Fengchi” (GB20), “Waiguan” (SJ5) and “Yanglingquan” (GB34) on NF- κ B p65, IKK β and I κ B α in migraine (ME) rats induced by nitroglycerin (NTG), and to explore the possible mechanism of acupuncture in treating ME. **Methods** 40 SD rats were randomly divided into blank group, model group, acupuncture group and

[收稿日期] 2021-04-14

[基金项目] 湖南省自然科学基金面上项目(2019JJ40227);中国博士后科学基金面上项目(2017M612566);湖南省研究生科研创新项目(2018CX47);第四批全国中医临床基础优秀人才研修项目(国中医药人教发[2017]24号);湖南省人力资源和社会保障厅人才项目(湘人社发[2018]23号);湖南省 121 创新人才培养工程;湖南省高层次卫生人才 225 工程培养项目。

[作者简介] 宋伯骥,男,硕士,医师,研究方向:针灸治病机理研究。

[通信作者] *付磊,男,副教授,硕士研究生导师,E-mail:fulei@126.com;刘未艾,女,教授,硕士研究生导师,博士,E-mail:55999630@qq.com。

western medicine group, with 10 rats in each group. The blank group was not given any treatment; the model group was modeled by subcutaneous injection of NTG, the acupuncture group was intervened treatment by acupuncture at “Fengchi” (GB20), “Waiguan” (SJ5) and “Yanglingquan” (GB34) for 8 days after modeling, the western medicine group was intervened treatment by intragastric administration of flunarizine hydrochloride for 8 days after modeling. Behavioral changes and 50% mechanical shrinkage threshold (PWT) were observed and recorded before modeling, after modeling and after treatment. The protein expression levels of NF- κ B P65, IKK β and I κ B α in meninges were detected by Western blot (WB). The mRNA content of NF- κ B P65, IKK β and I κ B α in spinal trigeminal nucleus was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** (1) After modeling, except for the blank group, the other three groups all had red ears, tail biting and cage climbing behaviors, the behavioral score increased and 50% PWT decreased ($P<0.01$), indicating the success of modeling. (2) After modeling, the behavioral scores of rats in model group were significantly higher than those in the blank group ($P<0.01$); after treatment, compared with the model group, the behavioral scores of the acupuncture group and the western medicine group were significantly lower ($P<0.01$); compared with the western medicine group, there was no significant difference in the acupuncture group ($P>0.05$). (3) After modeling, except for the blank group, the 50% PWT of rats in the other three groups was significantly lower than that in the blank group ($P<0.01$); after treatment, compared with the model group, the 50% PWT in the acupuncture group and the western medicine group was significantly increased ($P<0.01$); compared with the western medicine group there was no significant difference in the acupuncture group ($P>0.05$). (4) The content of NF- κ B P65, IKK β and I κ B α protein in the model group was significantly higher than those in the blank group ($P<0.01$); the protein content of NF- κ B P65, IKK β and I κ B α in acupuncture group and western medicine group were significantly decreased ($P<0.01$), and there was no significant difference between acupuncture group and western medicine group ($P>0.05$). (5) Compared with the blank group, the mRNA levels of NF- κ B P65, IKK β and I κ B α in the model group were significantly higher ($P<0.01$); compared with model group, the mRNA levels of NF- κ B P65, IKK β and I κ B α in the acupuncture group and western medicine group were significantly decreased ($P<0.01$), and there was no significant difference between acupuncture group and western medicine group ($P>0.05$). **Conclusion** Acupuncture at “Fengchi” (GB20), “Waiguan” (SJ5) and “Yanglingquan” (GB34) can relieve the pain of ME rats, effectively reduce the protein and gene expression of NF- κ B P65, IKK β and I κ B α in the meninges and trigeminal spinal tract nucleus, which may be one of the mechanisms of acupuncture at “Fengchi” (GB20), “Waiguan” (SJ5) and “Yanglingquan” (GB34) in the treatment of ME.

[**Keywords**] migraine; acupuncture; “Fengchi” (GB20); “Waiguan” (SJ5); “Yanglingquan” (GB34); NF- κ B; IKK β ; I κ B α

偏头痛(migraine, ME)属于慢性发作性神经血管疾患,其严重程度常被公众和许多医务人员低估,有时也会与其他类型的头痛(如紧张型头痛)相混淆,往往缺乏正确的诊断以及适当的治疗^[1]。《2016年全球疾病负担研究》指出,ME作为世界第六大常见疾病和第二大致残性神经系统疾病,在全球有将近30亿患者^[2]。目前,ME的治疗仍以药物治疗为主,存在许多不良反应,如乏力、睡眠困难、恶心和呕吐^[3],且费用昂贵、难以根治,最终导致患者依从性差,难以得到很好的疗效。而针灸治疗ME疗效确切并且十分安全^[4-6],已被西方国家日益接受作为治疗ME的替代疗法^[7]。关于ME的发病机制,目前主流学说认为与三叉神经血管系统的激活有关,其主要生理病理改变为脑膜血管扩张、炎性因子释放导致的神经源性炎症以及中枢痛觉传导抑制的减弱。核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)与炎症的发生关系密切,参与多种炎症反应的基因转录过程。研究表明^[8],NF- κ B在ME发病过程中起着重要

作用。本团队在前期研究^[9-10]中发现,针刺风池、外关、阳陵泉可以提高ME大鼠的疼痛阈值,降低大鼠疼痛敏感性,并通过调控ME大鼠外周血清的相关血管活性物质和神经递质的表达,从而抑制神经源性炎症(neurogenic inflammation, NI),能够预防和治疗ME的急性发作。本实验研究以盐酸氟桂利嗪为对照,通过观察针刺风池、外关、阳陵泉对偏头痛模型大鼠NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的影响,从NF- κ B信号传导通路的角度探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康SPF级SD大鼠40只,3~4月龄,体质量(225 \pm 25)g,雌雄各半,由湖南中医药大学动物实验中心提供,实验单位许可证号:SYXK(湘)2013-0005。实验动物的质量合格证号:43004700035050。

1.2 主要仪器与试剂

华佗牌针灸针、电子针疗仪(苏州医疗用品,规

格 0.25 mm×13 mm, 型号:SDZ-Ⅱ); Von Frey 纤毛机械刺激针(瑞沃德); 台式冷冻离心机(黑马医学仪器有限公司, 型号:TGL-18R); 电泳仪(美国 Bio-rad 公司, 型号:164-5050); 电泳槽(北京六一仪器有限公司, 型号:DYCZ-24EN); 转膜仪(北京六一仪器有限公司, 型号:DYCZ-40A); 荧光定量 RCP 仪(美国 Thermo 公司, 型号:PIKO REAL 96); 荧光 PCR 板(美国 Thermo 公司, 型号:SPL0960)。硝酸甘油注射液(河南润弘制药, 国药准字 H20057216); 常规化学试剂(上海国药生物有限公司); RIPA 裂解液(长沙维世尔生物有限公司); 逆转录试剂盒(北京康为世纪有限公司); 引物(上海生工)。

1.3 动物分组及处理

大鼠常规适应性饲养 3 d。采用数字随机表法将 40 只 SD 大鼠随机分成 4 组, 分别是模型组、空白组、针刺组、西药组, 每组 10 只。空白组: 不做任何处理; 模型组: 正常饲养 8 d, 第 8 天皮下造模; 针刺组: 针刺风池、外关、阳陵泉干预 7 d, 每天 1 次, 每次 30 min, 第 8 天皮下造模, 30 min 后行针刺治疗 30 min; 西药组: 盐酸氟桂利嗪药液灌胃干预 7 d, 每天 1 次, 第 8 天皮下造模, 30 min 后行灌胃治疗 1 次。

为保持齐同可比性, 除空白组外, 各组与西药组同时段灌胃等量生理盐水, 与针刺组同时段捆绑束缚 30 min。

1.4 造模及模型评价

1.4.1 造模方法 参照 Tassorelli C 等^[11]的方法造模: 臀部皮下, 注射 NTG 注射液 1 次, 10 mg/kg。

1.4.2 模型评价 (1)行为学^[12]: 皮下注入 NTG 后, 大鼠双耳会发红, 并出现爬笼次数的增多, 前肢频繁挠头, 咬尾、竖毛等活动增加, 蜷缩以及焦躁不安的行为改变, 证明造模成功。(2)50% PWT: 用纤维丝疼痛测试仪^[13]对后爪足底机械痛阈进行测定, 记录大鼠的后肢缩足反应测量出的刺激力, 用来推算 50% PWT, 从而判断 ME 大鼠疼痛程度。对造模成功标准的判定: 大鼠造模成功后其对疼痛的敏感性将会增加(造模后的 50% PWT 测定值比造模前低)。

1.5 穴位定位与针刺方法

根据郭义主编《实验针灸学实验指导》^[14]的“动物针灸穴位图谱”, 结合解剖学知识。风池: 位于寰椎翼前缘的直上方凹陷内, 刺针时需向鼻尖方向斜 2~3 mm。外关: 位于前肢外侧距腕关节 3 mm 处, 在尺、桡骨间。刺针直刺 1 mm。阳陵泉: 位于距后三里(大鼠膝关节下侧腓骨小头下约 5 mm) 上外侧 5 mm, 直刺 6 mm。

针刺方法^[15]: 华佗牌 φ0.25 mm×13 mm 一次性针, 对大鼠双侧风池、阳陵泉以及外关穴进行针刺,

进针需 1~6 mm, 平泻平补, 捻动 180°、120 次/min、0.5~2 min, 行针完成后, 把针刺组调成同侧的外关和阳陵泉连接针刺仪(SDZ-Ⅱ型)导线正负极, 用疏密波 10/50 Hz, 0.5~1.0 mA 对其进行刺激, 当大鼠双上肢出现规律性抖动或者局部肌肉收缩为强度标准, 30 min/次。

1.6 动物给药及灌胃

取盐酸氟桂利嗪胶囊(5 mg), 加生理盐水(40 mL), 制成浓度为 0.125 mg/mL 的盐酸氟桂利嗪溶液, 4 °C 保存。按照 10 mL/kg 剂量进行灌胃给药^[16]。灌胃方法见参考^[17]。

1.7 检测指标及取材方法

1.7.1 行为学观察 观察造模前、造模后、治疗后 30 min 内大鼠爬笼、咬尾、前肢挠头、往返活动等行为次数总和(出现 1 次计 1 分)。

1.7.2 50% PWT 测量 分别在造模前、造模后、治疗后, 将各组大鼠放置于测试架上, 用动物围栏隔开, 充分暴露后大鼠足底, 以使得实验者可自由接触到, 用纤维丝疼痛测试仪, 对其同侧后爪趾面的中间区域进行刺激, 对大鼠后下肢缩足反射进行观察, 推算出 50% PWT。

1.7.3 脑膜及三叉神经脊束核取材 待各组大鼠处理完毕后, 20% 乌拉坦 4 mL/kg 腹腔注射, 去掉大鼠头部及颈部毛发, 再用 75% 酒精消毒剪去毛发的部位, 然后剪开头皮, 暴露颅骨, 用小咬骨钳以枕骨大孔为入口将大鼠枕骨去掉, 并进一步扩大创口, 使大脑表面完整暴露, 剥离出脑膜、三叉神经脊束核, 用冰生理盐水冲洗后速入液氮中冻存, -80 °C 备用。

1.7.4 蛋白免疫印迹法(Western blot, WB)检测大鼠脑膜 IKKβ、IκBα、NF-κB P65 蛋白的表达 剪取 0.025 g 组织, 冰上蛋白裂解 10 min, 离心(4 °C, 12 000 r/min, 15 min), 取上清, 测定蛋白浓度。经电泳、转膜、封闭后, 稀释 IKKβ (1:1 000); IKBA (1:10 000); NF-κBP65 (1:800); β-actin (1:5 000), 4 °C 孵育过夜。稀释 HRP 标记的二抗(1:6 000), 鼠抗(M)(1:5 000), 孵育 90 min。ECL 化学发光液孵育 3 min, X 胶片曝光、显影。使用 Quantity one 软件进行灰度值分析。

1.7.5 反转录-聚合酶链反应(RT-PCT)检测大鼠三叉神经脊束核 IKKβ、IκBα、NF-κB P65 基因的表达 脑膜组织 0.02 g+1 mL Trizol+0.2 倍的三氯甲烷, 混合液低温离心(12 000 r/min, 15 min)。取上清, 加入等体积的异丙醇(IPA), 室温下静置 10 min 后低温离心(12 000 r/min, 15 min), 去上清, 加入 75% 乙醇 1 mL, 低温离心(12 000 r/min, 15 min)。去上清, 空气干燥 5~10 min。加入无菌无酶水 50 μL 溶解沉淀后测定 RNA 浓度。以组织总 mRNA 为模板, 反转录 cDNA。42 °C 孵育 30~50 min, 85 °C 孵育

5 min。以 β -actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对数据进行相对定量分析。其中各基因 PCR 引物序列见表 1。

表 1 各基因 PCR 引物序列

引物名称	序列	扩增片段大小/bp
IKK β -F	ACTCTCAGCTCAGTAAGACCG	105
IKK β -R	CCACAGTCTTCTCATCCTCGTT	
I κ B α -F	TACGCCCCAGCATCTCCACTCCG	100
I κ B α -R	CTCCACGATGCCAGGTAGCCAT	
NF- κ B P65-F	ACTATGGATTTCCTGCTTACGG	118
NF- κ B P65-R	GCACAATCTCTAGGCTCGTT	
β -actin-F	ACATCCGTAAAGACCTCTATGCC	223

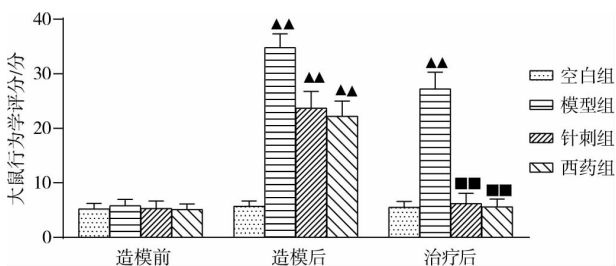
1.8 统计学方法

实验所得数据用 SPSS 22.0 统计分析,数据用“ $\bar{x}\pm s$ ”进行表示,所有相关数据进行正态性和方差齐性检验。当满足正态性条件后,多组计量数据进行单因素方差分析,当方差齐时行 LSD 检验,当方差不齐时需行 Dunnett T3 法检验;当数据不满足正态性情况时,用秩和检验。均以 $P<0.05$ 为差异有统计意义。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学比较

造模前,4 组大鼠行为学评分差异无统计学意义 ($P>0.05$),说明有可比性。造模后,除空白组外其余 3 组大鼠行为学的评分与空白组相比均明显升高,差异有统计学意义 ($P<0.01$),提示造模成功。治疗后,与模型组比较,针刺组和西药组行为学评分明显降低,差异有统计学意义 ($P<0.01$);与西药组比较,针刺组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 1。说明针刺风池、外关、阳陵泉和盐酸氟桂利嗪均能改善偏头痛大鼠的行为学表现。



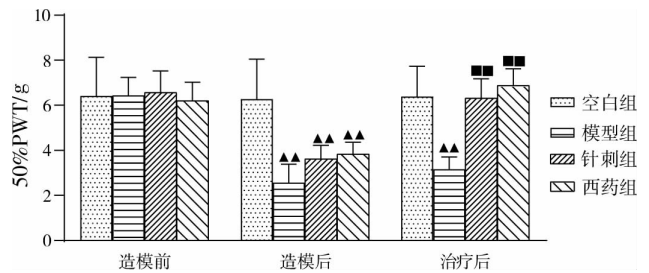
注:与空白组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较, $\blacksquare P<0.01$

图 1 各组大鼠行为学评分比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

2.2 各组大鼠 50% PWT 比较

造模前, 各组大鼠 50% PWT 数值差异无统计学意义 ($P>0.05$),证明其有可比性。造模后,除空白组外其余 3 组大鼠大鼠 50% PWT 与空白组比较均

显著降低,差异有统计学意义 ($P<0.01$),表明造模成功。治疗后,与模型组比较,针刺组和西药组 50% PWT 明显升高,差异有统计学意义 ($P<0.01$);西药组与针刺组比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 2。



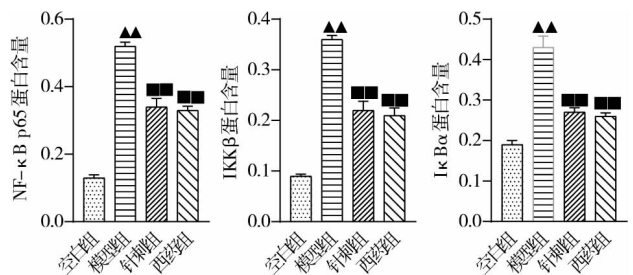
注:与空白组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较, $\blacksquare P<0.01$

图 2 各组大鼠大鼠 50%PWT 的比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

说明针刺风池、外关、阳陵泉和盐酸氟桂利嗪均能提高偏头痛大鼠的疼痛敏感度。

2.3 各组大鼠脑膜 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白表达水平比较

与空白组比较,模型组 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白含量明显升高,且差异有统计意义 ($P<0.01$);与模型组相比,针刺组与西药组 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白含量均明显减少,差异有统计学意义 ($P<0.01$);西药组与针刺组比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 3-4。说明针刺风池、外关、阳陵泉和盐酸氟桂利嗪均能下调 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白在脑膜的表达。



注:与空白组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较, $\blacksquare P<0.01$

图 3 各组大鼠脑膜 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白含量 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

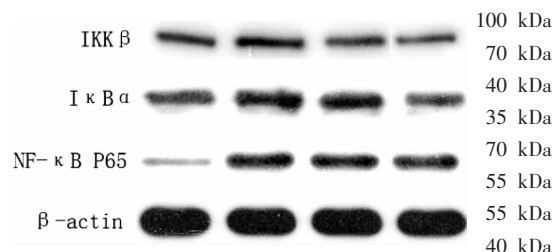
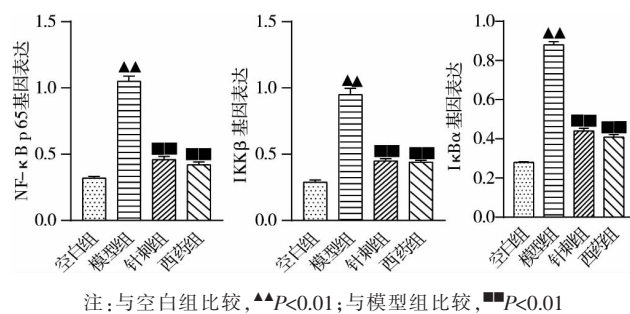


图 4 各组大鼠脑膜 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白含量灰度分析图

2.4 各组大鼠三叉神经脊束核 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α mRNA 表达水平比较

与空白组比较,模型组 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α mRNA 相对表达量均显著提高,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,针刺组和西药组 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α mRNA 相对表达量均下降,差异有统计学意义($P<0.01$);西药组与针刺组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。说明针刺风池、外关、阳陵泉和盐酸氟桂利嗪都均能下调 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 基因在三叉神经脊束核的表达。见图 5。



注:与空白组比较,▲▲ $P<0.01$;与模型组比较,■■ $P<0.01$

图 5 各组大鼠三叉神经脊束核 IKK β 、I κ B α 、NF- κ B P65 mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

3 讨论

中医称 ME 为“首风”“边头风”,是中医头痛中的一类病证。其好发于头侧部,为少阳经循之处,故多以少阳枢机不利为主要病机;“少阳为枢”是对少阳生理功能的总概括。《说文解字》曰:“枢,户枢也”,“主发之机”,提示少阳是气机升降之枢纽。手足少阳经均与气机升降联系密切,《难经·六十六难》曰:“三焦者,原气之别使,主通行三气”,三焦经既是气机升降的重要通道,更是总司气化及气机的重要场所;少阳胆经多气少血,而《东垣十书》中曰:“足少阳胆经之脉,起于目眦,上抵头角,病头角额痛,如头半边痛者,先行手少阳阳明,再走足少阳阳明,此为偏头痛也”。故 ME 治以通调气机为要,针刺选穴以少阳二经穴位为主。

ME 的发病机制目前尚不完全明确,主流为三叉神经血管源性学说^[18];该学说把血管、神经递质和神经三者结合,认为发生 ME 的主要生理病理改变为脑膜血管扩张、炎性因子释放导致的 NI 以及中枢痛觉传导抑制的减弱,而整个过程与三叉神经血管系统的激活有关。脑膜及脑膜血管是偏头痛外周疼痛敏感组织,当脑膜及脑膜血管受到刺激,刺激信息被周围三叉神经的末梢接收,由传入纤维传进与头痛相关的二级神经元三叉神经脊束核导致中枢致敏,随后该信号被传到丘脑三级神经元中,进行伤害

性刺激,最终将其传进扣带回、额叶、岛叶,从而引起 ME^[19]。近年研究证实,NF- κ B 在 ME 发病过程中起着重要作用^[8],在静止状态下,NF- κ B 转录因子以抑制蛋白作用下的非活性二聚体的形式存在于静止的硬脑膜细胞的胞浆里。遇到有害刺激,I κ B 激酶复合物激活导致独立 I κ B 蛋白磷酸化,然后磷酸化的 I κ B 进行泛素化和蛋白酶体降解以释放使 NF- κ B 二聚体(P50/P65)自由进入细胞核,与炎症相关基因位点相互结合并复制,使血管渗透性增强,最终导致组织水肿,疼痛敏感提高。

IKK β 是 IKK 复合体中的一个催化亚基,参与机体的炎症反应和免疫应答过程。细胞遭受相应刺激后,活化细胞内的一些上游激酶,降解 IKK β 磷酸化 I κ B α 分子中 Ser32 和 Ser36,使 NF- κ B 从复合体中解离出来转运到细胞核内启动下游基因转录,因而,IKK β 成为了激活 NF- κ B 经典途径有关的关键亚基^[20]。I κ B α 作为 I κ B 家族的核心成员,结合 NF- κ B 杂二聚体,在静止状态下位于细胞质中,抑制 NF- κ B 的活化^[21],有研究^[22]表明,细胞中 I κ B α 的分布呈动态性,I κ B α 可以抑制 NF- κ B 的活化,反馈调节 NF- κ B 系统。NF- κ B P65 是最典型的 NF- κ B 转录因子,也是其主要的活性形式^[23],异源二聚体主要由 P65 组成的异源二聚体 N 短含有 Rel 同源结构域(发挥转导功能主要场所)^[24-26]。

本实验结果说明:NTG 造模后,大鼠行为学评分增加($P<0.01$),50% PWT 降低($P<0.01$),脑膜及三叉神经脊束核中 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白与基因表达均明显上升($P<0.01$),与现有实验研究^[12,27]结果一致。针刺风池、外关、阳陵泉可以下调大鼠脑膜及三叉神经脊束核中 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白含量和基因表达($P<0.01$),其原因可能如下:(1)针刺能够调节调整血管的异常收缩和舒张状态,减轻三叉神经系统的神经源性炎症,抑制痛觉从外周向中枢的传导,从而达到治疗 ME 的效果。已有研究^[28]证明,针刺能单向抑制 NF- κ B 信号转导系统,通过影响 NF- κ B 进入细胞核,从而调控基因调节转录的过程。(2)电针在针刺的基础上,结合电的生理效应,使针刺信号不断向中枢传导,更好的发挥镇痛作用,同时采用疏密波能够有效的促进局部的血液循环,抑制血管的紧张,有利于致痛物质的吸收^[29]。(3)选用风池、外关、阳陵泉治疗 ME 在本课题组前期^[30-31]已证明其经穴的特异性。据报道,风池、外关、阳陵泉均能不同程度参与 NF- κ B 信号通路中,抑制 NF- κ B 通路因子的释放,有效控制炎症^[32-34]。笔者认为将针刺效果、疏密波针刺效果与穴位效果相互叠加,共同作用,最终导致了 ME 大鼠脑膜及三叉神经脊

束核中NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 蛋白含量和基因表达的下降。

综上所述,针刺风池、外关、阳陵泉能够减轻ME大鼠的疼痛程度,有效下调脑膜及三叉神经脊束核中NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 的蛋白含量与基因表达,这可能是针刺风池、外关、阳陵泉治疗ME的机制之一。

参考文献

- [1] PETERS G L. Migraine overview and summary of current and emerging treatment options[J]. *The American Journal of Managed Care*, 2019, 25(2 Suppl): S23-S34.
- [2] COLLABORATORS G 2 H. Global, regional, and national burden of migraine and tension-type headache, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *The Lancet Neurology*, 2018, 17(11): 954-976.
- [3] Tfelt-Hansen P C. Evidence-based guideline update: Pharmacologic treatment for episodic migraine prevention in adults: Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Headache Society[J]. *Neurology*, 2013, 80(9): 869-870.
- [4] Alecrim-Andrade J, Maciel J A, Cladellas X C, et al. Acupuncture in migraine prophylaxis: A randomized sham-controlled trial[J]. *Cephalalgia*, 2006, 26(5): 520-529.
- [5] Zhao L, Chen J, Li Y, et al. The long-term effect of acupuncture for migraine prophylaxis[J]. *JAMA Internal Medicine*, 2017, 177(4): 508-515.
- [6] Diener H C, Kronfeld K, Boewing G, et al. Efficacy of acupuncture for the prophylaxis of migraine: A multicentre randomised controlled clinical trial[J]. *The Lancet Neurology*, 2006, 5(4): 310-316.
- [7] Zhao L, Zhang F W, Li Y, et al. Adverse events associated with acupuncture: Three multicentre randomized controlled trials of 1968 cases in China[J]. *Trials*, 2011, 12(1): 1-9.
- [8] 张芹,齐丹丹,张忠玲.核转录因子- κ B 信号通路在偏头痛发病机制中的相关研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2016,43(1):87-90.
- [9] 刘秋佳,叶意红,王乾娜,等.电针少阳经穴对偏头痛大鼠行为学、50%缩足阈值及血清 ET、NO、CGRP 含量的影响[J]. *中华中医药杂志*,2019,34(1):5428-5432.
- [10] 王乾娜,刘秋佳,叶意红,等.不同时期电针少阳经特定穴对偏头痛大鼠血清中 5-HT 及 SP 含量的影响[J]. *时珍国医国药*,2019,30(11):2795-2798.
- [11] Tassorelli C, Greco R, Wang D C, et al. Nitroglycerin induces hyperalgesia in rats: A time-course study [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2003, 464(2/3): 159-162.
- [12] 周莉,蔡秀英,倪健强.偏头痛实验动物模型的行为学评价[J]. *中国疼痛医学杂志*,2016,22(4):293-297.
- [13] Detloff M R, Fisher L C, Deibert R J, et al. Acute and chronic tactile sensory testing after spinal cord injury in rats[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2012(62): e3247.
- [14] 郭义,方剑乔.实验针灸学实验指导[M].3版.北京:中国中医药出版社,2012:47-48.
- [15] 刘璐,裴培,王麟鹏.针刺治疗实验性偏头痛模型大鼠机制的研究进展[J]. *中国针灸*,2016,36(3):331-336.
- [16] 王清清,刘玉敏,林晓,等.盐酸氟桂利嗪干预硝酸甘油致偏头痛大鼠的代谢组学研究[J]. *中国药理学杂志*,2019,54(3):193-199.
- [17] 施新猷.现代医学实验动物学[M].北京:人民军医出版社,2000.
- [18] 董兰真,蒲圣雄,周冀英.偏头痛与神经源性炎症的研究进展[J]. *重庆医学*,2015,44(8):1126-1128.
- [19] 刘顶鼎,郭建生.降钙素基因相关肽与偏头痛三叉神经血管系统机制的关系[J]. *中国现代应用药学*,2015,32(3):381-385.
- [20] 王晓璐,方玉春,李静.IKK β 结构与功能及其抑制剂研究进展[J]. *中国药理学通报*,2012,28(2):158-161.
- [21] Ghosh S, Hayden M S. Celebrating 25 years of NF- κ B research[J]. *Immunological Reviews*, 2012, 246(1): 5-13.
- [22] Hinz M, Arslan S Ç, Scheiderer C. It takes two to tango: I κ Bs, the multifunctional partners of NF- κ B[J]. *Immunological Reviews*, 2012, 246(1): 59-76.
- [23] Zhang Z Q, Rigas B. NF- κ B, inflammation and pancreatic carcinogenesis: NF- κ B as a chemoprevention target (review)[J]. *International Journal of Oncology*, 2006, 29(1): 185-192.
- [24] 杨丽白,王淑丽,牛争平.核因子 KB 在偏头痛发病机制中的作用[J]. *国际脑血管病杂志*,2007,15(3):214-217.
- [25] Kaileh M, Sen R. Role of NF- κ B in the anti-inflammatory effects of tocotrienols [J]. *Journal of the American College of Nutrition*, 2010, 29(3 Suppl): 334S-339S.
- [26] Hayden M S, Ghosh S. Shared principles in NF- κ B signaling[J]. *Cell*, 2008, 132(3): 344-362.
- [27] 蒲玉婷,王小强,杨思进,等.头痛颗粒对偏头痛模型大鼠行为学及 NF- κ B 信号转导通路的影响[J]. *广州中医药大学学报*,2019,36(4):569-573.
- [28] 钟国新.针刺对慢性萎缩性胃炎模型大鼠 NF- κ B 转导系统影响的研究[D].广州:广州中医药大学,2014.
- [29] 黄彬,姜岳波.疏密波电针治疗紧张型头痛疗效观察[J]. *针灸临床杂志*,2013,29(3):46-48.
- [30] 王乾娜,刘秋佳,叶意红,等.电针少阳经特定穴与非经非穴对偏头痛大鼠血清中相关神经递质及 50%缩足阈值的影响[J]. *时珍国医国药*,2018,29(11):2802-2804.
- [31] 叶意红,刘秋佳,康乐蔷薇,等.电针少阳经特定穴对偏头痛大鼠血清中 NO、ET-1 含量及 50%PWT 的影响[J]. *湖南中医药大学学报*,2018,38(12):1453-1457.
- [32] 马天明,李然,程为平.针刺百会和风池穴对神经性皮炎模型大鼠 NF- κ B 信号通路的影响[J]. *辽宁中医药大学学报*,2017,19(8): 124-127.
- [33] 林栋.针刺大鼠外关穴对不同脑区 CREB 磷酸化及相关信号转导机制研究[D].广州:广州中医药大学,2011.
- [34] 倪伟.电针阳陵泉等下合穴对急性胆囊炎模型豚鼠 NF- κ B 及 IL-1 β 的对比研究[D].长沙:湖南中医药大学,2016.