

艾灸足三里、梁门穴对应激性溃疡大鼠胃黏膜细胞凋亡的干预作用

易受乡, 彭艳, 常小荣, 彭娜, 严洁, 林亚平

易受乡, 彭艳, 常小荣, 彭娜, 严洁, 林亚平, 湖南中医药大学
针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007
易受乡, 1970年湖南医学院医疗系本科毕业, 主要从事针灸治
病机制研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30572310

国家973计划中医理论基础研究专项, No. 2005CB523306-9

通讯作者: 易受乡, 410007, 湖南长沙市韶山中路113号, 湖南中
医药大学针灸推拿学院. yishouxiang@yahoo.com.cn

电话: 0731-5381161

收稿日期: 2006-06-30 接受日期: 2006-09-01

Effect of moxibustion at Zusanli and Liangmen point on gastric mucosal cell apoptosis in rats with stress ulcer

Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Xiao-Rong Chang, Na Peng,
Jie Yan, Ya-Ping Lin

Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Xiao-Rong Chang, Na Peng,
Jie Yan, Ya-Ping Lin, College of Acupuncture and Mas-
sage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine,
Changsha 410007, Hunan Province, China

Supported by National Natural Science Foundation of
China, No. 30572310, and the Major State Basic Research
Development Program of China (973 Program), No.
2005CB523306-9

Correspondence to: Shou-Xiang Yi, College of Acupunc-
ture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese
Medicine, Changsha 410007, Hunan Province,
China. yishouxiang@yahoo.com.cn

Received: 2006-06-30 Accepted: 2006-09-01

Abstract

AIM: To explore the effects of moxibustion at Zusanli and Liangmen point on gastric mucosal cell apoptosis in rats with stress-induced ulcer, and analyze the relationship between those effects and the plasma content of dopamine (DA), mucosal expression of endothelin (ET).

METHODS: Sixty healthy Sprague Dawley rats were randomly assigned into 4 groups, named group A, B, C and D, respectively. The animal model of stress ulcer was established by water immersion and restraint stress. The rats in group A, B, and D served as the restraint, model, and non-acupoint controls, while those in group C received moxibustion at Zusanli and Liangmen

point. Immunohistochemical method was used to detect the apoptosis index (AI, $\times 10^{-6}/\mu\text{m}^2$) in all the groups, and biological signal analyzer was applied to measure gastric mucosal blood flow (GMBF). The plasma content of DA was examined by high efficiency liquid chromatography and the mucosal expression of ET was detected by radioimmunoassay.

RESULTS: Moxibustion at Zusanli and Liangmen point significantly decreased the gastric injury, plasma content of DA and mucosal expression of ET as well as the apoptosis of gastric mucosal cells, while markedly increased GMBF. In comparison with those in group A, the UI (26.80 ± 9.81 vs 12.00 ± 5.94 , $P < 0.01$), plasma DA content (9.97 ± 3.69 $\mu\text{g/L}$ vs 4.54 ± 2.61 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.01$), mucosal ET expression (361.469 ± 98.080 ng/L vs 149.205 ± 94.1425 ng/L, $P < 0.01$) and AI (9.65 ± 4.19 vs 4.36 ± 2.60 , $P < 0.01$) were significantly increased, but GMBF (139.489 ± 33.133 mL/min vs 377.090 ± 85.840 mL/min, $P < 0.01$) was decreased in group B. However, the values of UI and AI were obviously lower in group C than those in group B and D (UI: 14.10 ± 5.42 vs 26.80 ± 9.81 , 26.20 ± 7.23 , $P < 0.01$; AI: 3.00 ± 1.58 vs 9.65 ± 4.19 , 8.20 ± 5.17 , $P < 0.01$), but GMBF was higher in group C (316.552 ± 85.469 mL/min vs 139.489 ± 33.133 , 141.512 ± 58.450 mL/min, $P < 0.01$). the ulcer index (UI), the content of ET in gastric mucosa and DA in plasma decreased, GMBF increased, AI of gastric mucosa cells decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Furthermore, the plasma DA and mucosal ET levels were significantly lower in group C than those in group B (DA: 4.41 ± 2.48 $\mu\text{g/L}$ vs 9.97 ± 3.69 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.01$; 148.271 ± 69.113 ng/L vs 361.469 ± 98.080 ng/L, $P < 0.01$), but they had no marked difference with those in group D.

CONCLUSION: Moxibustion at Zusanli and Liangmen point can resist the stress-induced injury, and the mechanism may be associated with the decrease of plasma DA level and gastric mucosal ET expression, improvement of GMBF and inhibition of gastric cell apoptosis.

■背景资料

正常胃黏膜细胞存在程序性死亡, 即细胞凋亡, 藉以清除衰老的细胞, 维持胃黏膜生理平稳和完整性。人体各组织细胞数目的维持是由细胞增殖与凋亡之间平衡来实现的。而应激性损伤所致的胃黏膜病变常常伴随着大量细胞凋亡的发生。寻求一种无毒副作用的方法, 抑制细胞凋亡, 对抗应激性损伤, 是保护胃黏膜可行途径。针灸介入可以影响细胞凋亡。已有研究表明, 针刺可抑制缺血引起的神经系统细胞和心肌细胞凋亡的发生。

■相关报道

近年来关于针灸对胃黏膜损伤保护作用机制的研究已有不少报道,不少作者从神经机制的调节、胃肠激素的影响、胃黏膜血流量的改善、ET及NO等体液因子作用、对抗氧自由基、胃壁屏障的加强等方面揭示了针灸对胃黏膜损伤保护作用的可能机制。新近有作者发现针灸足三里等穴还可通过诱导热休克蛋白表达,促进肠三叶因子的释放等环节,对抗胃黏膜损伤,促进损伤后的胃黏膜修复,实现对胃黏膜的保护作用。更有作者从EGF受体及其受体后信息转导通路,探讨了针灸对胃黏膜保护的细胞及分子生物机制。

Key Words: Moxibustion; *Zusanli*; *Liangmen*; Stress ulcer; Gastric mucosal blood flow; Endothelin; Dopamine; Cell apoptosis

Yi SX, Peng Y, Chang XR, Peng N, Yan J, Lin YP. Effect of moxibustion at *Zusanli* and *Liangmen* point on gastric mucosal cell apoptosis in rats with stress ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(33):3163-3168

摘要

目的:探讨艾灸足三里、梁门穴对应激性溃疡胃黏膜细胞凋亡的影响,分析其与血浆多巴胺(DA)、胃黏膜内皮素(ET)的关系,揭示艾灸足三里、梁门穴对抗应激性损伤,进而保护胃黏膜的机制。

方法:SD大鼠60只随机分为4组,即束缚对照组、模型组、艾灸足三里和梁门穴组、艾灸非穴点对照组,每组15只。束缚水浸应激法造模,免疫组化方法测定细胞凋亡指数($\times 10^{-6}$ 个/ μm^2)。采用生物信号分析仪检测胃黏膜血流量(GMBF),高效液相色谱法测定血浆DA含量,放射免疫法测定胃黏膜ET含量。

结果:预先艾灸足三里、梁门穴可显著降低随后的应激性胃黏膜损伤指数,降低胃黏膜ET和血浆DA含量,增加胃黏膜血流量,降低胃黏膜细胞凋亡指数。造模后,B组UI值(26.80 ± 9.81 vs 12.00 ± 5.94 , $P < 0.01$)、血浆DA(9.97 ± 3.69 $\mu\text{g/L}$ vs 4.54 ± 2.61 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.01$)、胃黏膜ET(361.469 ± 98.080 ng/L vs 149.205 ± 94.1425 ng/L , $P < 0.01$)以及凋亡指数(9.65 ± 4.19 vs 4.36 ± 2.60 , $P < 0.01$)显著高于A组,而GMBF低于A组(139.489 ± 33.133 mL/min vs 377.090 ± 85.840 mL/min , $P < 0.01$);C组UI值、凋亡指数显著低于B组和D组(UI: 14.10 ± 5.42 vs 26.80 ± 9.81 , 26.20 ± 7.23 , $P < 0.01$);凋亡指数: 3.00 ± 1.58 vs 9.65 ± 4.19 , 8.20 ± 5.17 , $P < 0.01$),而GMBF高于B组和D组(316.552 ± 85.469 mL/min vs 139.489 ± 33.133 , 141.512 ± 58.450 mL/min , $P < 0.01$);C组血浆DA含量及胃黏膜ET显著低于B组(DA: 4.41 ± 2.48 $\mu\text{g/L}$ vs 9.97 ± 3.69 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.01$; 148.271 ± 69.113 ng/L vs 361.469 ± 98.080 ng/L , $P < 0.01$),但与D组比较无显著性差异($P > 0.05$)。

结论:艾灸足三里、梁门穴预处理可减轻束缚水浸应激所造成大鼠胃黏膜的损伤程度,这一作用可能是通过降低血浆DA和胃黏膜ET含量,增加胃黏膜血流量,抑制细胞凋亡实现的。

关键词: 艾灸; 足三里穴; 梁门穴; 应激性溃疡; 胃黏膜血流量; 内皮素; 多巴胺; 细胞凋亡

易受乡, 彭艳, 常小荣, 彭娜, 严洁, 林亚平. 艾灸足三里、梁门穴对应激性溃疡大鼠胃黏膜细胞凋亡的干预作用. *世界华人消化杂志* 2006;14(33):3163-3168

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3163.asp>

0 引言

应激性溃疡(SU)的发生主要是机体的神经内分泌失调,使胃黏膜保护机制减弱,同时损伤因素相对增强而导致的。其中胃黏膜缺血是SU的主要病理生理改变^[1]。应激状态下,外周交感-肾上腺髓质系统强烈兴奋,儿茶酚胺释放增多,同时糖皮质激素分泌增加,他可增强儿茶酚胺对血管的反应^[2],从而引起胃肠黏膜血管痉挛,导致胃黏膜缺血、缺氧。另一方面,应激状态下胃黏膜更新能力异常,应激性损伤所致的胃黏膜病变常伴随着大量细胞凋亡的发生。胃黏膜细胞凋亡的增强可能是消化性溃疡的重要发病机制之一^[3]。本课题组在以往的研究中已证明,针刺足阳明经穴对胃黏膜细胞损伤有一定保护作用^[4-5]。关于艾灸足阳明经穴对胃黏膜损伤的影响研究较少。本实验选取足三里和梁门两穴,观察艾灸预处理是否可减轻应激所造成的胃黏膜细胞凋亡,并分析其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠60只,雌雄各半,体质量200-250 g,由湖南农业大学动物科技学院提供。施灸材料为苏州东方艾绒厂生产的“神灸300灸”艾炷(型号:东方一型),直径0.5 m-0.5 cm,高0.8 m-0.8 cm。DA标准品(由美国Sigma公司提供);ET检测试剂盒(解放军总医院科技开发中心放免所);细胞凋亡检测试剂盒(武汉博士德公司);棕黄色DAB显色剂(北京中杉金桥生物技术有限公司);TBS缓冲液(武汉博士德公司);多聚赖氨酸(Poly-L-lysine,北京中杉金桥生物技术有限公司);其余试剂均系国产分析纯。生物信号分析仪、超声多普勒探头(美国Biopac公司);TGL16M台式高速冷冻离心机(长沙科威实业有限公司);LC-6A高效液相色谱仪(日本,岛津公司);Motic B1显微镜(浙江);FJ-2008型 γ 免疫计数仪(西安262厂);MILLIPORE超纯水系统(法国);Elix/RiO3纯水系统(法国);石蜡切片机(美国820型AO切片机)。

1.2 方法

1.2.1 标本提取及处理方法 完全随机分为4组:A束缚对照组,B模型组,C艾灸足三里、梁门穴组,

D艾灸非穴对照点组, 每组15只. 采用束缚冷应激方法制作急性SU模型^[6], 大鼠禁食不禁水24 h后, 束缚于鼠板上, 置于温度为20℃水中, 水面达胸骨剑突水平, 10 h后取出松绑. 取大鼠单侧足三里、梁门两穴. 穴位定位参考: 林文注主编第1版《实验针灸学》常用动物穴位定位法. 对照点: 梁门穴外测旁开1 cm的非穴位处和膝关节内侧与足三里平行的非穴点. 所有大鼠捆绑于鼠板, A、B组不灸, C、D组以艾炷黏于穴位或对照点施灸, 每天每穴(点)连续灸四壮(约0.5 h), 连灸8 d, 左右交替. 第8天灸后B、C、D组束缚水浸造模(造模前禁食24 h). 造模后24 h动物麻醉(ip 100 g/L乌拉坦, 1 mL/100 g)取材并测定各项指标. 实验结束后动物麻醉后取材. 每组随机抽取5只大鼠, 取胃前, 先将幽门部用线结扎, 然后用注射器抽取40 g/L多聚甲醛3 mL, 自食道注入胃内, 拔出针头结扎贲门. 在两结扎线的两端切断食道及十二指肠, 摘下全胃, 10 min后沿胃大弯剖开, 用冰生理盐水冲洗, 取胃组织一小块(约5 mm×10 mm), 然后放入40 g/L多聚甲醛中4℃固定24 h, 石蜡包埋备用. 其余大鼠麻醉后, 从腹中线打开腹腔, 暴露胃, 采用美国Biopac公司生产的激光多普勒血流仪, 选用迷你型接触式探头, 血流计将采集的信号由MP150型模数转换器转换成血流灌注量单位(blood perfusion unit, BPU), 其值输入计算机, 通过Acqknowledgev3.5软件进行曲线描记. 测量时在大鼠胃大弯处剪一个2 cm小口, 将激光探头先后置于胃窦、胃底及胃大、小弯4点检测, 当显示器测量曲线稳定后开始取值, 每只大鼠每点各测三次, 每次测15 s, 每点取稳定的曲线10 s算其平均值, 最后以4点GMBF的平均值作为结果进行统计学分析. 测定GMBF后, 颈动脉采血3 mL, 加入EDTA和抑肽酶各40 μL, 静置待分层后, 离心(3500 r/min, 4℃, 15 min), 取上清, -20℃保存. 胃黏膜处理: 大鼠剖腹取胃, 沿胃大弯剖开, 用冰生理盐水冲洗胃内残留物, 计数胃黏膜损伤指数后分析天平称质量, 按1.5 mL/400 mg加入生理盐水, 用玻璃匀浆器研磨40-50次, 制成胃黏膜组织匀浆, 离心(3500 r/min, 4℃, 15 min), 取上清液, -20℃低温保存, 待测.

1.2.2 观察指标 (1)胃黏膜损伤指数(UI)和胃黏膜血流量(GMBF): 按GUTH法计算UI^[7], 采用美国BIOPAC公司生物信号分析仪, 分别测定胃窦、胃底、胃大弯和胃小弯4个部位的GMBF, 取平均值; (2)血浆DA测定: 采用高效液相色谱

法, 色谱柱为Diamonsil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-100 mmol/L醋酸钠(用醋酸调pH至4.5) = 5 : 95, 用前经0.45 μm的过滤膜, 超声脱气, 流速为1.0 mL/min, 柱温为35℃, AUFS 50 mV, 进样量为20 μL, 工作电压为70 mV. 样品处理: 取血清200 μL, 加少许磺基水杨酸混匀, 14 000 r/min, 离心5 min, 取上清20 μL进样. 计算公式如下: 样品浓度 = 样品峰面积×标准浓度/标准峰面积, 单位为ng/mL; (3)胃黏膜ET测定: 按试剂盒说明书进行放射免疫法测定; (4)细胞凋亡检测: 按博士德公司细胞凋亡试剂盒说明书处理. 阳性判定标准为细胞核中出现棕黄色细颗粒状. 阳性细胞计数采用MIAS医学图像分析系统进行测定, 每张切片随机选取5个高倍视野(10×40), 计算细胞凋亡的数密度(阳性细胞数/统计场面积, 单位个/μm², 由MIAS系统自动设定), 取平均值, 设定为凋亡指数(AI).

统计学处理 检测数据用mean±SD表示, 所有资料均符合正态分布; 多组计量资料采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 方差齐者用LSD和SNK法, 方差不齐者用Tamhane's T₂或Dunnett's T₃法, 使用SPSS 11.5软件进行处理.

2 结果

2.1 艾灸足三里、梁门穴对胃黏膜UI, GMBF, ET及血浆DA含量的影响 A组大鼠虽未水浸造模, 但经束缚处理后, 胃黏膜亦有轻度损伤, 水浸造模后, B组UI值显著高于A组($P<0.01$), 说明造模后胃黏膜损伤指数明显升高; C组UI值显著低于B组和D组($P<0.01$), 说明艾灸足三里、梁门穴可降低胃黏膜损伤指数, 保护胃黏膜, 且艾灸穴位作用较非穴位明显. B组GMBF显著低于A组($P<0.01$), C组GMBF显著高于B组和D组($P<0.01$), 提示束缚水浸应激造模后胃黏膜血流量下降, 而艾灸足三里、梁门穴可改善SU大鼠胃黏膜血流量. B组血浆DA含量显著高于A组($P<0.01$), C组血浆DA含量显著低于B组($P<0.01$), C组血浆DA含量与D组比较无显著性差异($P>0.05$), 但C组血浆DA含量更接近于A组, 结果提示, 束缚水浸应激后大鼠血浆DA含量增高, 艾灸可降低SU大鼠血浆DA含量. B组胃黏膜ET含量显著高于A组($P<0.01$), C组和D组胃黏膜ET含量显著低于B组($P<0.01$), 且C组胃黏膜ET含量更接近于A组, 提示束缚水浸应激造模后, 胃黏膜ET含量增高, 艾灸可降低胃黏膜ET含量, 且艾灸穴位作用优于非穴位(表1).

■创新盘点

本研究观察了艾灸预处理对应激性胃黏膜损伤的保护作用, 并分析了这一作用与细胞凋亡的关系. 前期工作表明针刺可抑制和减轻乙醇所诱发的胃黏膜细胞凋亡, 但本研究从分析艾灸对血浆DA、胃黏膜ET等对黏膜细胞凋亡的影响, 充分探讨了艾灸对应激性溃疡胃黏膜的干预机制.

■应用要点

艾灸治未病是中医防病保健的理论精髓, 研究显示艾灸体表穴位可降低应激性溃疡胃黏膜损伤, 抑制细胞凋亡, 保护胃黏膜, 值得在临床上推广应用。

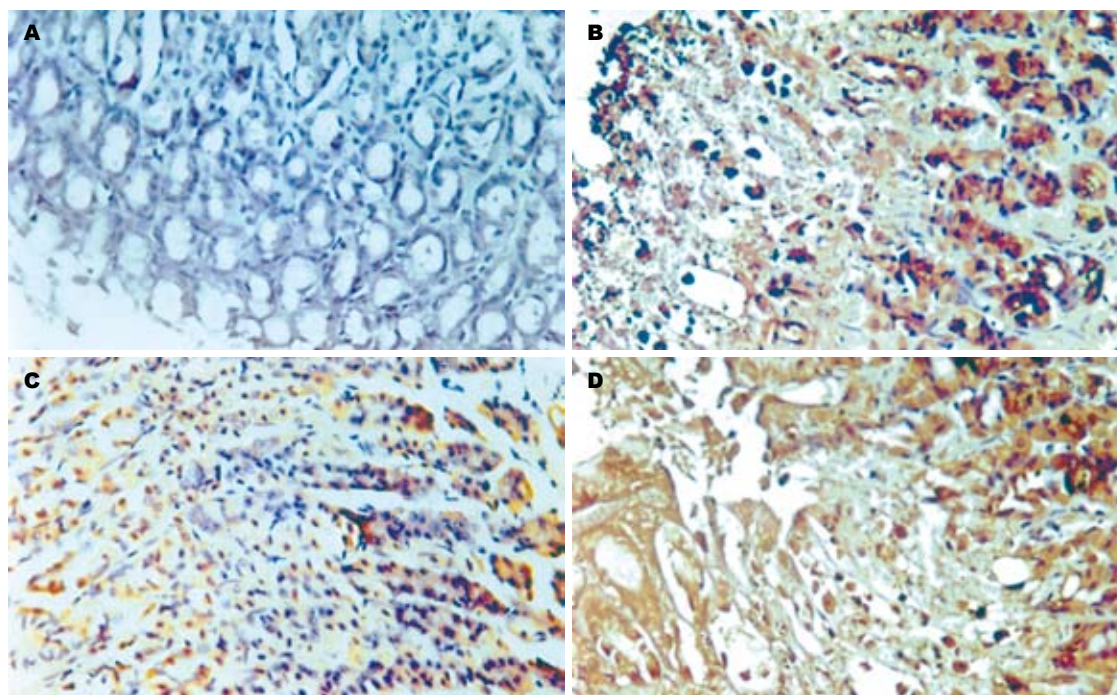


图1 各组胃黏膜细胞凋亡情况. A: A组; B: B组; C: C组; D: D组.

表1 艾灸足三里、梁门穴对UI, GMBF, DA, ET的影响(mean ± SD)

分组	n	UI	GMBF (mL/min)	DA (μg/L)	ET (ng/L)
A	10	12.00 ± 5.94	377.09 ± 85.84	4.54 ± 2.61	149.21 ± 94.14
B	10	26.80 ± 9.81 ^b	139.49 ± 33.13 ^b	9.97 ± 3.69 ^b	361.47 ± 98.08 ^b
C	10	14.10 ± 5.42 ^{df}	316.55 ± 85.47 ^{df}	4.41 ± 2.48 ^d	148.27 ± 69.14 ^d
D	10	26.20 ± 7.23 ^b	141.51 ± 58.45 ^b	5.12 ± 2.53 ^d	197.00 ± 68.10 ^d

^bP<0.01 vs A组; ^dP<0.01 vs B组; ^fP<0.01 vs D组.

2.2 艾灸足三里、梁门穴对胃黏膜细胞凋亡指数的影响 B组胃黏膜AI显著高于束缚对照组(P<0.05), C组胃黏膜AI显著低于B组和D组(P<0.05), D组胃黏膜AI与B组比较无显著性差异, 结果提示, 束缚水浸应激造模后胃黏膜细胞凋亡明显增加, 艾灸足三里、梁门穴可抑制SU大鼠胃黏膜细胞凋亡(表2, 图1).

表2 艾灸足三里、梁门穴对胃黏膜细胞凋亡指数(AI)的影响(mean ± SD, 10⁻⁶个/μm²)

分组	n	AI
A	5	4.36 ± 2.60
B	5	9.65 ± 4.19 ^a
C	5	3.00 ± 1.58 ^c
D	5	8.20 ± 5.17

^aP<0.05 vs A组; ^cP<0.05 vs B, D组.

3 讨论

SU是机体对各种应激性打击的一种非特异性生物防御反应, 是中枢神经、内分泌和免疫等多个器官系统相互作用, 导致胃黏膜保护机制削弱, 损伤因素作用相对增强的结果^[8]. 其中, 黏膜缺血在SU的发病机制中占主导地位^[9]. 应激状态下, 外周交感-肾上腺髓质系统强烈兴奋, 儿茶酚胺释放增多, 引起胃肠黏膜血管痉挛, 导致胃黏膜缺血、缺氧. DA是一类内源性儿茶酚胺类物质. 研究表明, 应激可使脑组织内DA含量升

高^[10]. 而应激状态下, 会出现下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴兴奋性升高, 可使血液中的儿茶酚胺含量也上升. 王琳 *et al*^[11]发现, 强制冷水游泳应激大鼠血清E, DA, HVA, 5-HT及5-HIAA含量较正常组升高, 其中DA含量升高尤为显著. 有人^[12]在对慢性束缚应激大鼠的研究中观察到, 与正常组比较, 模型组血浆中E, DA, 5-HT, 5-HIAA显著升高. 本实验观察到模型组血浆DA含量较束

缚对照组显著升高, 表明束缚水浸应激使大鼠血浆DA含量发生明显变化。朱舜丽 *et al*^[13]在对“束缚-冷冻”应激性溃疡大鼠的研究中发现, 与非穴组比较, 应激组胃窦黏膜DA和NE含量呈下降趋势, 而胃体黏膜DA和NE含量呈上升趋势。而电针足三里穴后, 胃窦黏膜DA含量较应激组升高, 而胃体黏膜DA含量较应激组下降, 接近正常水平, 表明电针足三里穴对应激性溃疡大鼠胃黏膜DA含量起双向调节作用。本实验观察到, 经艾灸足三里、梁门穴预处理的大鼠血浆DA含量较模型组显著降低, 接近束缚对照组水平, 提示艾灸足三里、梁门穴可调节应激性溃疡大鼠血浆DA含量, 从而对抗应激, 减轻胃黏膜损伤。

细胞凋亡是由基因控制的细胞主动死亡过程, 是程序性细胞死亡的主要形式^[14-15]。正常胃黏膜细胞存在程序性死亡, 研究表明细胞凋亡是主要的胃肠道上皮死亡方式^[16], 以清除衰老的细胞, 维持胃黏膜生理平稳和完整性。人体各组织细胞数目的维持是由细胞增殖与凋亡之间平衡来实现的, 任何原因所致细胞凋亡加快或减慢, 均可使机体内环境稳定发生变化, 机体结构和功能受损, 产生各种疾病。正常胃黏膜上皮细胞的增殖与凋亡保持平衡^[17], 而应激性损伤所致的胃黏膜病变常常伴随着大量细胞凋亡的发生。唐志鹏 *et al*^[18]研究发现, 在正常胃黏膜表面上皮细胞存在少量凋亡细胞, 乙酸致大鼠胃溃疡第3天, 在溃疡表面可以见到密集的坏死细胞和凋亡细胞, 溃疡边缘黏膜细胞AI明显增多。彭仲生 *et al*^[19]发现*H pylori*感染能增加GU患者的胃黏膜上皮细胞凋亡, 而对细胞增殖无影响。患者细胞AI/PCNA-LI比值为1.541, 较正常人明显增高, 说明*H pylori*感染引起胃黏膜上皮细胞凋亡的数目大于其增殖的数目, 因而增殖的细胞不能弥补丢失的凋亡细胞, 最后形成溃疡。徐俊 *et al*^[20]在对应激性溃疡大鼠的研究中发现, 与空白对照组比较, 实验组胃黏膜上皮细胞凋亡明显增加, 溃疡指数明显增加, 且与应激时间呈正相关, 表明应激促使大鼠胃上皮细胞凋亡, 凋亡参与了胃黏膜的损害过程。而溃疡的愈合也伴随着细胞凋亡的减少。熊国良 *et al*^[21]对胃溃疡大鼠的研究发现, 模型组细胞AI明显高于正常组, 治疗组在溃疡愈合后的AI明显下降。已有资料报道, 针刺可抑制缺血引起的神经系统细胞和心肌细胞凋亡的发生^[22-23]。针灸对胃肠道黏膜细胞凋亡的影响研究较少。有研究表明, 针灸可抑制溃疡

性结肠炎结肠上皮细胞的凋亡^[24]。本课题组在观察针刺对胃黏膜细胞凋亡的影响时发现, 电针足三里可激发Bcl-2基因蛋白表达, 从而抑制和减轻乙醇所诱发的胃黏膜细胞凋亡, 且效果优于非穴组^[25]。本实验观察到, 模型组细胞AI显著增高, 提示束缚水浸应激可诱导大鼠胃黏膜细胞凋亡, 从而引起胃黏膜损伤; 艾灸足三里、梁门穴组大鼠胃黏膜AI显著低于模型组, 提示艾灸足三里、梁门穴可抑制束缚水浸应激所诱导的胃黏膜细胞凋亡, 从而减轻胃黏膜损伤。

ET是一种具有强大的收缩血管作用的内源性生物活性多肽, 与SU的发病关系密切, 参与了急性胃黏膜组织损伤的病理生理过程^[26], 通过其强烈的收缩血管作用导致胃黏膜循环障碍、胃黏膜血流量下降而介导胃黏膜损伤^[27]。Spyridon *et al*^[28]认为, ET-1造成的局部微循环障碍触发了胃黏膜细胞病理性凋亡的发生及增殖能力的降低, 进而引起胃黏膜结构的改变, 最终导致溃疡形成。Pollock *et al*^[29]认为, 应激因素作用下, ET-1增多特异性结合于ET_A受体并激活细胞内酪氨酸激酶级联反应, 最终导致TNF- α 基因转录的增加, TNF- α 大量产生进一步诱导细胞凋亡的发生。

本实验观察到, 模型组血浆DA和胃黏膜ET显著高于束缚对照组, GMBF显著低于束缚对照组, AI显著高于束缚对照组, 结果提示束缚水浸应激造模后, 血浆DA和胃黏膜ET含量升高, 而胃黏膜血流量下降, 诱发细胞凋亡; 艾灸足三里、梁门穴组血浆DA和胃黏膜ET含量显著低于模型组, 胃黏膜血流量显著高于模型组, AI显著低于模型组, 结果提示, 艾灸足三里、梁门穴可调节血浆DA和胃黏膜ET含量, 改善胃黏膜缺血, 抑制细胞凋亡, 减轻胃黏膜损伤, 从而保护胃黏膜。

“治未病”是中医防病保健的理论精髓之一, 即在无病或疾病发生之前预先应用针灸方法激发经络之气, 扶助正气, 提高机体抵御各种致病因子的能力, 从而达到防止疾病的发生、减轻随后疾病的损害和保健延年的目的。他是一种更加注重机体自身潜能激发与利用的方法^[30]。因而古代医家大都推崇艾灸治未病的保健灸法。现代研究也表明, 艾灸具有镇痛, 改善血液循环, 调整代谢紊乱, 调节免疫功能, 调整脏腑功能等作用^[31]。本实验采用艾灸预处理, 观察其对胃黏膜的保护作用。结果显示艾灸预处理可对抗束缚水浸应激引起的胃黏膜损伤, 该作

■名词解释

针灸“治未病”: 在无病或疾病发生之前预先应用针灸方法激发经络之气, 扶助正气, 提高机体抵御各种致病因子的能力, 从而达到防止疾病的发生、减轻随后疾病的损害和保健延年的目的。

■同行评价

本文研究了艾灸足三里、梁门穴对应激性溃疡大鼠胃黏膜细胞凋亡的干预作用,具有一定的科学性。

用的可能机制是通过调节血浆DA、降低胃黏膜ET释放,增加GMBF,抑制细胞凋亡的发生,从而保护胃黏膜。且艾灸足三里、梁门穴效果优于艾灸非穴对照点,表明针灸足三里、梁门穴对胃黏膜的保护作用亦具有穴位的相对特异性。

4 参考文献

- 1 Matsumoto J, Takeuchi K, Ueshima K, Okabe S. Role of capsaicin-sensitive afferent neurons in mucosal blood flow response of rat stomach induced by mild irritants. *Dig Dis Sci* 1992; 37: 1336-1344
- 2 金惠铭. 病理生理学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 107-120
- 3 姜泊. 细胞凋亡基础与临床. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 1999: 171-175
- 4 易受乡, 阳仁达, 严洁, 常小荣, 林亚平. 针刺对胃黏膜损伤家兔表皮生长因子、生长抑素及生长抑素受体基因表达的影响. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1721-1723
- 5 常小荣, 严洁, 林亚平, 易受乡, 邓沅江. 电针足三里对兔胃黏膜损伤细胞保护作用的观察. *中国中医药信息杂志* 2002; 9: 26-27
- 6 聂时南, 李兆申, 许国铭, 湛先保, 屠振兴, 龚燕芳. 肠三叶因子在胃黏膜应激适应性细胞保护中的作用. *中华消化杂志* 2003; 23: 19-22
- 7 Guth PH, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat. Cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine. *Gastroenterology* 1979; 76: 88-93
- 8 湛先保. 应激性溃疡发生机制研究进展. *国外医学·消化系疾病分册* 1998; 18: 131-133
- 9 Svanen K, Gislason H, Guttu K, Herford JK, Fevang J, Gronbech JE. Role of blood flow in adaptive protection of the cat gastric mucosa. *Gastroenterology* 1991; 100: 1249-1258
- 10 张峰, 曹仲伟, 张学杰, 李法曾. 柴胡对大鼠慢性应激抑郁模型脑单胺类神经递质及其代谢物含量的影响. *山东中医药大学学报* 2005; 29: 224-226
- 11 王琳, 王天芳, 康纯洁, 刘晓兰, 刘燕, 张翠珍, 郑君芳. 消痰怡神口服液对应激大鼠下丘脑-垂体-肾上腺-胸腺轴影响的实验研究. *中国中西医结合杂志* 2002; 20: 116-119
- 12 赵歆, 陈家旭, 杨建新, 李伟, 刘晓兰, 康纯洁, 刘燕. 疏肝中药复方对慢性束缚应激大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴的调节. *实验动物科学与管理* 2003; 20: 6-12
- 13 朱舜丽, 许冠荪, 陈全珠, 王振玖, 焦洁. 电针足三里穴对应激性胃溃疡大鼠一氧化氮和儿茶酚胺的影响. *中国中西医结合脾胃杂志* 1996; 4: 39-41
- 14 Que FG, Gores GJ. Cell death by apoptosis: basic concepts and disease relevance for the gastroenterologist. *Gastroenterology* 1996; 110: 1238-1243
- 15 Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-1462
- 16 Wagner S, Beil W, Westermann J, Logan RP, Bock CT, Trautwein C, Bleck JS, Manns MP. Regulation of gastric epithelial cell growth by *Helicobacter pylori*: offence for a major role of apoptosis. *Gastroenterology* 1997; 113: 1836-1847
- 17 马锋振, 马洪升. 幽门螺杆菌相关胃黏膜疾病炎症、凋亡与乳酸杆菌的关系. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 312-317
- 18 唐志鹏, 许鑫梅, 叶柳忠, 匡忠生, 谢宇晖. 健中愈疡片对乙酸致胃溃疡大鼠胃黏膜细胞动力学的影响. *中国中西医结合消化杂志* 2001; 9: 201-203
- 19 彭仲生, 梁湛聪, 刘慕嫦, 欧阳能太. 幽门螺杆菌相关胃溃疡的细胞增殖与凋亡研究. *世界华人消化杂志* 1999; 7: 218-219
- 20 徐俊, 宋于刚, 武金宝, 赖卓胜, 王亚东. 应激性溃疡大鼠血浆EGF水平和胃上皮细胞凋亡的变化. *苏州大学学报* 2004; 24: 160-164
- 21 熊国良, 李家邦. 健胃愈疡颗粒剂对胃溃疡大鼠胃黏膜上皮细胞原位凋亡的影响. *湖南中医学院学报* 1999; 19: 23-24
- 22 Luo ZD, Luo ZK, Xu NG, Lai XS, Yin LH. Influence of electroacupuncture on apoptosis and nerve growth factor of focal cerebral ischemia of rats. *Chin J Clin Rehabil* 2004; 8: 1382-1383
- 23 田岳凤, 吴富东, 乔海法, 韩秀珍, 单秋华. 针刺手厥阴心包经穴对心肌缺血再灌注损伤细胞凋亡的影响. *中国针灸* 2003; 23: 685-687
- 24 吴焕淦, 黄臻, 刘慧荣, 张卫, 施茵, 朱毅, 崔云华, 刘世敏. 针灸对大鼠溃疡性结肠炎结肠上皮细胞凋亡影响的实验研究. *中国针灸* 2005; 25: 119-122
- 25 周国平, 严洁, 李江山, 邓常清, 刘健华. 电针“足三里”对胃黏膜损伤大鼠Bcl-2、Fas蛋白表达的影响. *针刺研究* 2004; 29: 31-34
- 26 Kawano S, Tsuji S. Role of mucosal blood flow: a conceptual review in gastric mucosal injury and protection. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15 Suppl: D1-6
- 27 李兆申, 湛先保, 许国铭. 胃黏膜损伤与保护—基础与临床. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 4
- 28 Spyridon L, Akira N, Hiromasa K, Katsutoshi G, Takao M, Yoshiki O, Hideo S, Hisayuki F. The development of the endothelin-1-induced gastric ulcer: time sequence analysis of morphologic changes. *Int J Exp Pathol* 1994; 75: 345-355
- 29 Pollock DM, Keith TL, Highsmith RF. Endothelin receptors and calcium signaling. *FASEB J* 1995; 9: 1196-1204
- 30 李晓泓. 针灸“治未病”与“针灸良性预应激假说”. *北京中医药大学学报* 2003; 26: 82-85
- 31 谢莉莉, 刘光谱. 艾灸的治疗作用和机理研究进展. *针灸临床杂志* 2000; 16: 55-57

电编 张敏 编辑 王晓瑜