

按部选穴针刺对糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦平滑肌RhoA/ROCK信号表达的影响

陈小丽, 刘丽, 文琪琦, 李萍, 王艳, 魏歆然, 岳增辉

■背景资料

近年来针对糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)胃窦平滑肌影响的研究日益增多,且不同的腧穴配伍具有疗效差异,寻求最佳的腧穴配伍方式成为目前的一个研究重点。本课题组通过采用不同的腧穴配伍治疗DGP大鼠发现,针刺能调节DGP大鼠胃窦平滑肌的RhoA/ROCK信号表达,且配伍局部穴疗效明显优于配伍远端穴及非经非穴。

陈小丽, 刘丽, 文琪琦, 李萍, 王艳, 魏歆然, 岳增辉, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007

陈小丽, 在读硕士, 主要从事针灸治病作用机制与临床研究。

基金项目: 国家重点基础研究计划基金资助项目, No. 2014CB543102。

作者贡献分布: 此课题由岳增辉、文琪琦、李萍及王艳设计; 研究过程由陈小丽、文琪琦、刘丽及魏歆然操作完成; 研究所用工具由刘丽与魏歆然提供; 数据分析由陈小丽与文琪琦完成; 本文写作由陈小丽与岳增辉完成。

通讯作者: 岳增辉, 教授, 410007, 湖南省长沙市雨花区韶山路113号, 湖南中医药大学针灸推拿学院。
624755064@qq.com
电话: 0731-85381298

收稿日期: 2016-02-23
修回日期: 2016-03-16
接受日期: 2016-03-23
在线出版日期: 2016-08-18

Effect of acupuncture at different acupoints on RhoA/ROCK signaling pathway in gastric antral smooth muscle tissue of rats with diabetic gastroparesis

Xiao-Li Chen, Li Liu, Qi-Qi Wen, Ping Li, Yan Wang, Xin-Ran Wei, Zeng-Hui Yue

Xiao-Li Chen, Li Liu, Qi-Qi Wen, Ping Li, Yan Wang, Xin-Ran Wei, Zeng-Hui Yue, College of Acupuncture and Moxibustion, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hu'nan Province, China

Supported by: the National Key Basic Research Development Program, No. 2014CB543102.

Correspondence to: Zeng-Hui Yue, Professor, College

of Acupuncture and Moxibustion, Hu'nan University of Chinese Medicine, 113 Shaoshan Road, Changsha 410007, Hu'nan Province, China. 624755064@qq.com

Received: 2016-02-23

Revised: 2016-03-16

Accepted: 2016-03-23

Published online: 2016-08-18

Abstract

AIM: To observe the effect of acupuncture at different acupoints on the RhoA/ROCK signaling pathway in the gastric antrum of diabetic gastroparesis (DGP) rats.

METHODS: Sixty SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, a Zusanli + Zhongwan group, a Zusanli + Neiguan, and a Zusanli + non-acupoint group, with 12 rats in each group. DGP was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin, followed by feeding for 8 wk. After 4 wk of treatment, the gastrointestinal transit rate was measured with black ink. The expression of RhoA protein and ROCK protein was detected by immunohistochemistry and Western blot.

RESULTS: Compared with the normal group, the model group showed a significant reduction in gastrointestinal transit rate and expression of RhoA, ROCK, MYPT1, and p-MYPT1 in gastric antral smooth muscle tissue and a significant increase in RhoA expression ($P < 0.01$), suggesting that DGP was successfully induced. Compared with the model group, the gastrointestinal transit rate and expression of RhoA, ROCK, MYPT1 and

■同行评议者

杨宗保, 副教授, 厦门大学医学院 中医系

p-MYPT1 in gastric antrum tissue significantly increased in the Zusanli + Zhongwan, Zusanli + Neiguan and Zusanli + non-acupoint groups ($P < 0.05$). RhoA, ROCK, MYPT1 and p-MYPT1 expression was significantly higher in the Zusanli + Zhongwan group than in the Zusanli + Neiguan and Zusanli + non-acupoint groups ($P < 0.05$). RhoA expression in gastric antral smooth muscle tissue was significantly higher in the Zusanli + Neiguan and Zusanli + non-acupoint groups than in the Zusanli + Zhongwan group ($P < 0.05$). The dietary intake was significantly reduced in the Zusanli + Zhongwan group compared with the model group during the treatment period ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Acupoint selection is an important factor to influence the effect of acupoint compatibility. Combination of local acupoints is obviously superior to the compatibility of distal acupoints and non-acupoint.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acupoint compatibility; Acupoint; Diabetic gastroparesis; Acupuncture; RhoA/ROCK signaling pathway

Chen XL, Liu L, Wen QQ, Li P, Wang Y, Wei XR, Yue ZH. Effect of acupuncture at different acupoints on RhoA/ROCK signaling pathway in gastric antral smooth muscle tissue of rats with diabetic gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(23): 3508-3516 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i23/3508.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i23.3508>

摘要

目的: 通过固定循经取穴配伍以不同部位选穴进行对比研究, 以糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)大鼠为观察对象, 研究不同按部选穴针刺治疗对DGP大鼠RhoA/ROCK信号的表达差异, 探讨按部选穴是影响腧穴配伍效应的主要影响因素。

方法: 将60只♂SPF级SD大鼠, 适应性喂养1 wk后, 随机分为空白对照组、模型组、足三里+中脘组、足三里+内关组、足三里+非经非穴组, 每组12只。除空白对照组12只外, 其余48只大鼠运用链脲佐菌素腹腔注射造糖尿病模型, 普通喂养8 wk后建立DGP大鼠模型, 针刺治疗4 wk, 于13 wk末墨汁灌胃后处死, 取胃窦组织。运

用Western blot检测胃窦平滑肌组织Ras同源物基因组成员A(Ras homolog gene family, member A, RhoA)、Rho蛋白相关卷曲螺旋激酶(Rho-associatedc, oiled-coil containing protein kinase, ROCK)、肌球蛋白磷酸酶靶亚单位1(myosin phosphatase target subunit 1, MYPT1)、p-MYPT1蛋白的表达量; 应用免疫组织化学检测胃窦平滑肌组织RhoA蛋白平均灰度值改变。

结果: 与空白对照组相比, 模型组的小肠推进率、胃窦平滑肌组织RhoA、ROCK、MYPT1、p-MYPT1蛋白的表达量明显降低($P < 0.01$), 胃窦平滑肌组织RhoA灰度值表达升高($P < 0.05$)。与模型组相比, 足三里+中脘组、足三里+内关组、足三里+非经非穴组的小肠推进率和胃窦平滑肌组织RhoA、ROCK、MYPT1、p-MYPT1蛋白的表达量明显升高($P < 0.05$), 胃窦平滑肌组织RhoA灰度值表达均具有降低的趋势($P < 0.05$)。与足三里+中脘组相比, 足三里+内关、足三里+非经非穴组胃窦平滑肌组织RhoA、ROCK、MYPT1、p-MYPT1蛋白的表达量降低($P < 0.05$), 胃窦平滑肌组织RhoA灰度值表达升高($P < 0.05$)。在治疗期间, 与模型组相比, 足三里+中脘组的饮食量明显降低($P < 0.05$)。

结论: 针刺能通过上调RhoA/ROCK信号的表达来促进胃平滑肌收缩, 改善DGP的症状; 证实按部选穴是影响腧穴配伍效应的重要因素, 且配伍局部穴明显优于配伍远端穴及非经非穴。

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 腧穴配伍; 按部选穴; 糖尿病胃轻瘫; 针刺治疗; RhoA/ROCK信号通路

核心提示: RhoA/ROCK信号通路是一种Ca²⁺非依赖性的平滑肌收缩调节机制, 针刺能通过促进胃窦平滑肌组织RhoA、ROCK等蛋白表达, 增强磷酸化肌球蛋白轻链的水平, 改善糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis)的症状。各配伍组间疗效差异证实不同的按部选穴是影响腧穴配伍效应的重要因素, 且配伍局部穴疗效最佳。

陈小丽, 刘丽, 文琪琦, 李萍, 王艳, 魏歆然, 岳增辉. 按部选穴

■ 研究前沿

腧穴配伍是在针灸选穴原则的指导下, 结合临床和腧穴主治特性, 选取两个以上作用相同的腧穴进行配伍以提高临床疗效, 不同的腧穴配伍具有疗效差异, 如何进行腧穴配伍, 提高临床疗效是本实验的研究目的。

■ 相关报道

糖尿病胃肠动力障碍的机制目前尚不明确,越来越多的研究认为胃肠平滑肌源性因素在该病的发生中起重要作用。胃窦平滑肌组织中RhoA水平及蛋白表达的改变使其下游的ROCK对肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light chain phosphatase, MLCP)活性的抑制作用发生改变,从而导致胃窦平滑肌收缩功能异常,近年RhoA/ROCK信号表达在糖尿病并发症中的作用成为研究热点。

针刺对糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦平滑肌RhoA/ROCK信号表达的影响. 世界华人消化杂志 2016; 24(23): 3508-3516 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i23/3508.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i23.3508>

0 引言

糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)于1958年最先由Kassander提出并描述其症状,是糖尿病的常见慢性并发症之一,临床多表现为腹胀、腹部不适、早饱、发作性呕吐等^[1,2]。DGP的主要特点是胃窦无张力导致的胃扩张、平滑肌收缩力减低引起的胃蠕动减慢和排空延迟^[3]。但迄今为止,DGP发病机制不十分清楚,可能与胃肠平滑肌变化、神经病变、高血糖、胃肠激素变化及Cajal间质细胞病变以及幽门螺杆菌感染等因素有关^[4]。实验研究^[5,6]发现RhoA/ROCK信号通路是调节平滑肌收缩,导致胃肠平滑肌收缩异常、影响胃动力的重要信号通路,DGP大鼠胃窦平滑肌组织中RhoA水平及蛋白表达明显下调,使得其下游的ROCK对肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light chain phosphatase, MLCP)活性的抑制作用减弱,导致DGP大鼠胃窦平滑肌的收缩能力减弱,出现胃排空延迟等胃动力异常。

针灸治疗DGP取得较为满意临床疗效,不仅能明显改善临床症状,且治疗后空腹血糖亦得到改善,不良反应小^[7,8],相关实验也证实针刺对胃肠运动具有良性的双相调节作用^[9]。但当前针灸治疗DGP的腧穴配伍方法并未统一且缺乏相关的机制研究^[10]。因此,我们建立DGP模型,固定循经选穴,观察不同的按部选穴,治疗本病的疗效差异,探讨按部选穴针刺对DGP大鼠胃窦平滑肌RhoA/ROCK信号表达的调节机制,证实按部选穴是腧穴配伍效应的影响因素。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级成年♂SD大鼠60只,体质量200-220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号:SYXK2013(湘)-0005。均经血糖仪检测,血糖正常者入选。饲养于湖南中医药大学实验动物中心SPF级实验动物房,饲养温度22℃-25℃,湿度40%-60%,自然采光。适应性喂养1 wk后,采用随机法将大鼠分为空白对照组、模型组、足三里+中脘组、足三里+

内关组、足三里+非经非穴组,每组12只。实验过程中对动物的处置和操作均遵守科技部颁发《关于善待实验动物的指导性意见》中有相关规定。链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(美国Sigma公司,批号015H 1492); TRIzol试剂盒(美国Invitrogen); 血糖仪及血糖试纸(美国强生公司稳易倍健型); 针灸针(苏州产华佗牌无菌针灸针,0.30 mm×25 mm); SP试剂盒(北京中杉金桥生物公司,SP-9000); DAB显色试剂盒(北京中杉金桥生物公司,ZLI-9031); 抗Rho A一抗(工作浓度1:1000, Abcam公司)、抗ROCK一抗(工作浓度1:1000, SAB公司)、抗肌球蛋白磷酸酯酶靶点亚单位1(myosin phosphatase target subunit 1, MYPT1)一抗(工作浓度1:1000, Cell Signaling Technology, Inc)、抗磷酸化p-MYPT1一抗(工作浓度1:1000, Cell Signaling Technology, Inc); OLYMPUS自动显微照相系统(日本)等。

1.2 方法

1.2.1 造模及评定: 将模型组、足三里+中脘组、足三里+内关组、足三里+非经非穴组大鼠禁食12 h,将STZ溶于0.1 mmol/L柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(pH 4.2, 4℃),配制成2%浓度,按55 mmol/kg于左下腹腔内一次性注射,72 h后检测随机血糖,<16.7 mmol/L者予以相同方法再次注射后检测随机血糖;空白对照组大鼠一次性注射等容量的0.1 mmol/L柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。所有大鼠均予以普通饲料,每日上午10:00定时喂养。实验13 wk期间,检测随机血糖<16.7 mmol/L者剔除实验。DGP模型成功标准^[11]: 血糖≥16.7 mmol/L者;观察大鼠一般情况(摄食量、饮水量、体质等)及大便性状与空白对照组有显著差异;大鼠胃排空率及小肠推进率与空白组相比有显著差异。

1.2.2 各组干预: 穴位定位: 根据李忠仁主编《实验针灸学》“动物针灸穴位图谱”^[12]及拟人对照法进行大鼠穴位定位: 中脘: 位于腹白线上,约脐上20 mm。足三里: 在膝关节下侧,腓骨小头下缘5 mm处,左右两侧各一。内关: 前肢内侧,离鼠腕关节约3 mm左右的尺桡骨缝间。非经非穴点: 肘内侧,肘尖与腋窝连线中点。

空白对照组、模型组: 束缚于鼠板上,每次30 min,每日1次,连续4 wk。足三里+中脘

组、足三里+内关组、足三里+非经非穴组: 取两侧相应穴位, 予每日针刺干预, 连续4 wk. 针刺深度为0.3-0.5 cm; 采用常规进针法后留针30 min, 每10 min行针一次, 进行提插、捻转, 行平补平泻手法, 提插的幅度为0.3-0.5 cm, 频率为60-90次/min之间, 提插捻转幅度和频率均采用均等的手法. 第30分钟在行针结束后出针. 在治疗期间, 均采用纱布将大鼠四肢固定于鼠板上, 松紧适中, 不定期于捆绑处用络合碘消毒, 治疗期间大鼠四肢并未因长时间束缚而出现缺血坏死情况, 四肢功能正常.

1.2.3 大鼠一般情况观察及检测: 造模成功后, 每周以尾静脉采血, 用血糖仪和血糖试纸测定血糖值; 每周测体质量; 观察大鼠24 h饮水量、饮食量, 观察大鼠皮毛、精神状态、粪便性质等. 食量测定: 每天上午10:00予每笼大鼠300 g普通饲料, 次日喂食前称质量即剩余饲料质量, 300 g减去剩余饲料质量即为每笼大鼠每日进食量. 血糖测定: 每周以尾静脉采血, 用血糖仪和血糖试纸测定血糖值. 墨汁灌胃法测小肠推进率: 末次治疗后, 禁食24 h, 各组大鼠均经口按1 mL/100 g体质量用量予黑色墨水灌胃, 20 min水合氯醛麻醉后予心尖采血, 处死后打开腹腔, 用镊子轻轻提取上端至幽门、下端至回盲部的肠管, 并置于托盘上, 轻轻将小肠拉成直线, 用量尺测量胃肠推进指标, 胃肠推进指标通过以下公式计算得出: 小肠推进率 = 墨水前端至幽门扩约肌距离(cm)/幽门括约肌至小肠末端距离(cm) × 100%.

1.2.4 免疫组织化学法测定RhoA蛋白表达: 取大鼠胃窦组织1 cm × 1 cm用PBS冲洗、40 g/L多聚甲醛固定, 常规脱水、包埋、切片, 经过脱蜡、抗原修复、过氧化氢灭活、血清封闭. 滴加RhoA一抗(1:50)后4 °C过夜, 次日复温漂洗后加入二抗, 37 °C孵育30 min. 漂洗后DAB显色2-4 min, 苏木复染, 常规脱水透明, 封片, 显微镜观察. 胞膜上或胞质内出现棕黄色片状或颗粒状物为阳性反应. 高倍镜下(400 ×) 每张切片随机取3个视野, 用OLYMPUS医学图文分析系统分析取其平均值作为该切片指标表达的平均灰度值.

1.2.5 Western blot测定RhoA、ROCK、MYPT1、p-MYPT1蛋白表达: 提取胃窦平滑肌组织蛋白, 采用BCA法定量蛋白浓度, 80 μg

蛋白/泳道行SDS-PAGE凝胶电泳分离总蛋白, 随后100 V恒压将蛋白转至硝酸纤维素膜, 室温下5%脱脂牛奶封闭2 h, 分别加入抗RhoA一抗、抗ROCK一抗、抗MYPT1一抗、抗p-MYPT1一抗4 °C孵育过夜, 加入二抗, ECL化学发光法显影. 进行凝胶图像分析, 将胶片进行扫描存档, 采用Quantity One 4.4.0软件分析, 以RhoA、ROCK、MYPT1和p-MYPT1的灰度比值表示RhoA、ROCK、MYPT1和p-MYPT1蛋白的相对表达量.

统计学处理 所以数据采用SPSS17.0统计软件进行统计分析, 正态分布资料用mean ± SD表示. 经检验满足正态性及方差齐性, 采用单因素方差分析进行多组间比较, 用LSD法进行多重比较; 不满足方差齐性, 用Tamhane T^2 检验. 偏态分布资料用中位数(M)和四分位数间距(QR)表示, 组间比较用秩和检验. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠一般情况 实验期间, 空白对照组大鼠精神状态可, 目光有神, 活动正常, 反应灵敏, 饮食正常, 皮毛有光泽, 大小便无特殊改变. 模型组、足三里+中脘组、足三里+内关组、足三里+非经非穴组大鼠在造模3 d后出现多饮、多食、多尿, 在第4周开始出现精神不佳、活动反应迟缓, 造模第6周是出现皮毛泛黄疏松无光泽, 形体消瘦, 大便性状改变, 气味难闻, 腹部膨隆. 死亡情况: 空白对照组1只、模型组3只、足三里+中脘组2只、足三里+内关组2只、足三里+非经非穴组3只.

2.2 治疗期间各组大鼠饮食量 与空白组比较, 模型组食量明显增多($P < 0.05$); 与模型组比较, 足三里+中脘组饮食量减低($P < 0.05$); 与足三里+中脘组比较, 足三里+内关组、足三里+非经非穴组饮食量增多($P < 0.05$)(图1).

2.3 墨汁灌胃法检测DGP大鼠胃肠推进率 与空白对照组比较, 模型组大鼠胃肠推进率明显减低($P < 0.05$), 结合大鼠的一般情况改变说明造模成功; 足三里+中脘组、足三里+内关组、足三里+非经非穴组与模型组比较胃肠推进率明显升高($P < 0.05$), 三组间无明显差异(图2).

2.4 免疫组织化学法检测DGP大鼠胃窦平滑肌组织RhoA蛋白表达 与空白对照组比较, 模

创新盘点

本文以DGP大鼠为研究对象, 固定循经选穴, 观察不同的按部选穴, 治疗本病的疗效差异, 探讨按部选穴对DGP大鼠胃窦平滑肌RhoA/ROCK通路调节机制, 为按部选穴是腧穴配伍效应的影响因素提供科学依据.

应用要点

探讨腧穴配伍效应的影响因素; 探讨按部选穴针刺对DGP大鼠胃窦平滑肌RhoA/ROCK信号表达的调节机制; 探讨DGP与RhoA/ROCK信号表达的关系, 进一步阐明其发病机制。

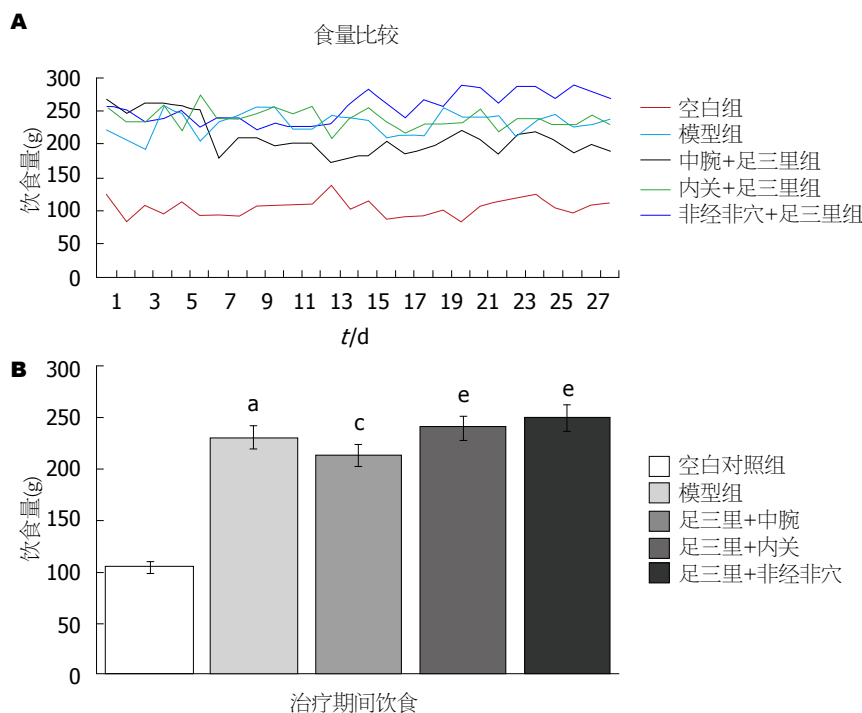


图1 治疗期间各组大鼠饮食变化比较. A: 治疗期间各组大鼠饮食变化曲线图; B: 各组大鼠治疗期间饮食量变化比较. ^a $P<0.05$ vs 空白组; ^c $P<0.05$ vs 模型组; ^e $P<0.05$ vs 足三里+中脘组。

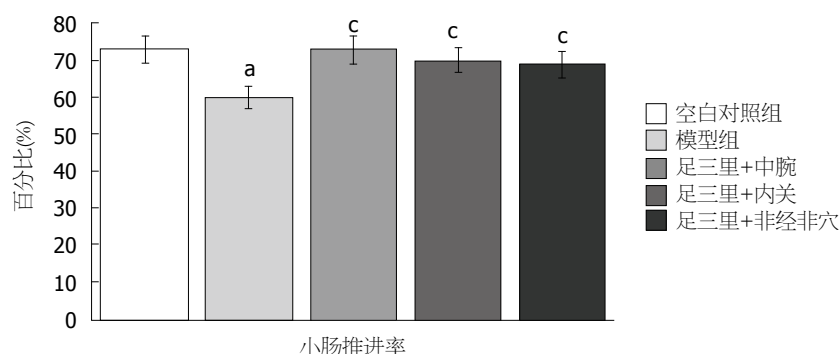
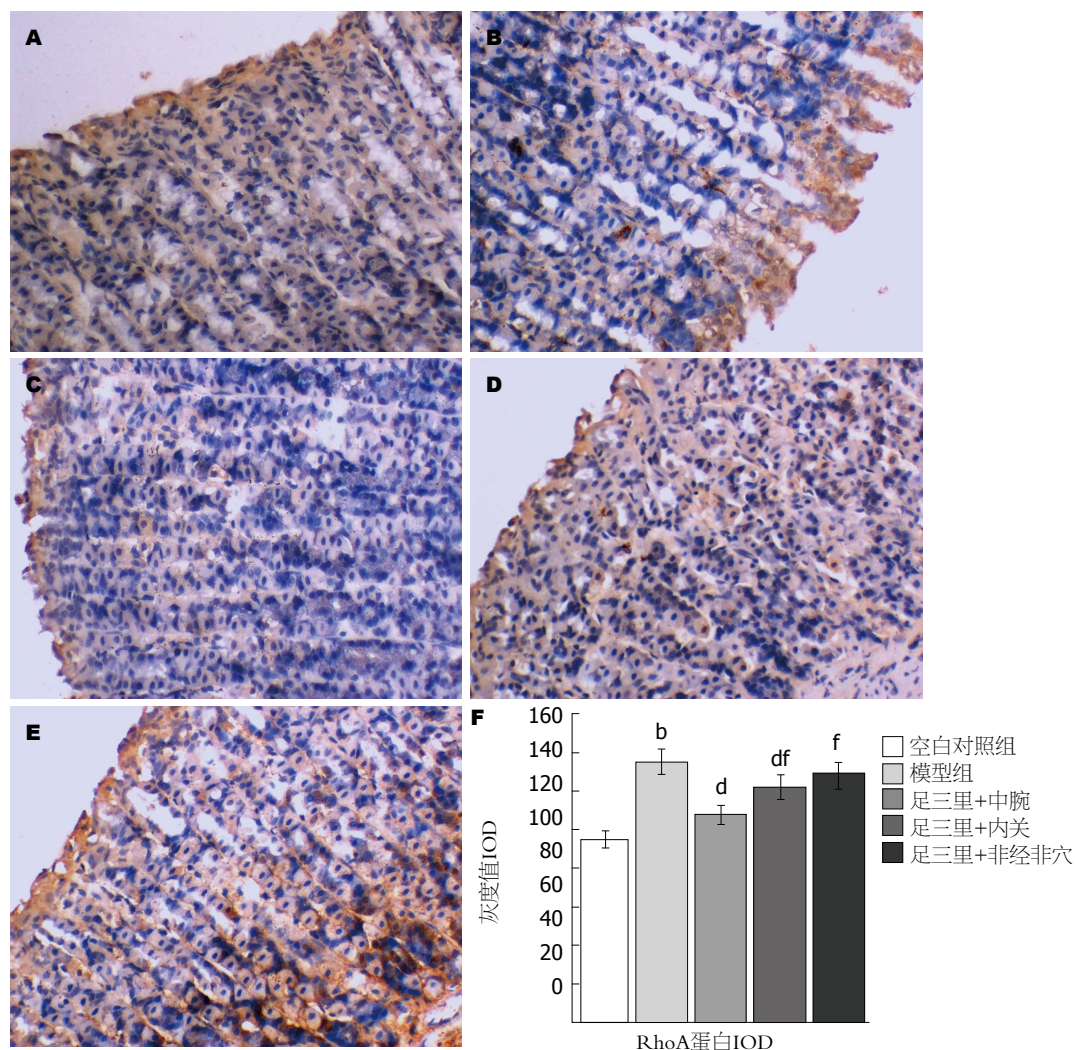


图2 各组大鼠治疗结束后胃肠推进率的比较. ^a $P<0.05$ vs 空白组; ^c $P<0.05$ vs 模型组。

型组大鼠胃窦平滑肌RhoA蛋白表达灰度值明显升高($P<0.01$); 与模型组比较, 足三里+中脘组、足三里+内关组大鼠胃窦平滑肌RhoA蛋白表达灰度值均降低($P<0.01$); 与足三里+中脘组比较, 足三里+内关组和足三里+非经非穴组大鼠胃窦平滑肌RhoA蛋白表达灰度值表达均上升($P<0.05$). 与足三里+内关组比较, 足三里+非经非穴组大鼠胃窦平滑肌RhoA蛋白表达灰度值升高趋势, 两组之间无差异($P>0.05$)(图3).

2.5 Western blot法检测DGP大鼠胃窦平滑肌组织RhoA、ROCK、MYPT1和p-MYPT1蛋白的相对表达量比较 与空白对照组比较, 模型组胃窦平

滑肌RhoA、ROCK、MYPT1和p-MYPT1的蛋白的表达量均降低($P<0.01$); 与模型组比较, 足三里+中脘组、足三里+内关组、足三里+非经非穴组胃窦平滑肌RhoA、ROCK和p-MYPT1的蛋白的表达量均升高($P<0.05$); 与足三里+中脘组比较, 足三里+内关组和足三里+非经非穴组胃窦平滑肌RhoA、ROCK、MYPT1和p-MYPT1蛋白的表达量降低, 其中足三里+中脘和足三里+内关组的MYPT1蛋白表达无差异($P>0.05$); 与足三里+内关组比较, 足三里+非经非穴组RhoA、ROCK和MYPT1蛋白的表达量均较低($P<0.05$), 足三里+内关组与足三里+非经非穴组的p-MYPT1蛋白的表达量无差异



■名词解释

腧穴配伍: 基于中医理论, 在针灸选穴原则的指导下, 结合临床和腧穴主治特性, 选取两个以上作用相同的腧穴进行配伍, 发挥腧穴的协同增效作用, 以达到特定治疗效果, 提高临床疗效的一种方法;

按部选穴: 受病的脏腑, 五官、肢体部位选取腧穴, 旨在就近调整受病部位的气血阴阳, 是“腧穴所在, 主治所及”的具体体现。

图 3 RhoA蛋白表达在胃窦组织中的免疫组织化学情况。A: 空白对照组($\times 400$); B: 模型组($\times 400$); C: 足三里+中脘组($\times 400$); D: 足三里+内关组($\times 400$); E: 足三里+非经非穴组($\times 400$); F: 各组大鼠胃窦组织RhoA蛋白表达平均灰度值。^b $P<0.01$ vs 空白对照组; ^d $P<0.01$ vs 模型组; ^f $P<0.01$ vs 足三里+中脘组。

($P>0.05$)(图4)。

3 讨论

腧穴配伍^[13]是基于中医理论, 在针灸选穴原则的指导下, 结合临床和腧穴主治特性, 选取两个以上作用相同的腧穴进行配伍, 发挥腧穴的协同增效作用, 以达到特定治疗效果, 提高临床疗效的一种方法。根据文献研究^[14,15], 腧穴配伍效应的影响因素主要为配伍方法、配伍效应、刺激手段及程度、时间因素、机体状态几个方面。明·高武《针灸聚英·百症赋》曰: “百症俞穴, 再三用心”, 《席弘赋也云》: “凡欲行针须审穴”; 选穴是影响腧穴配伍的关键因素, 其基本方式为按部选穴和循经选穴。

按部选穴可分为局部选穴与远端选穴。根

据腹部四区分法, 胃位于上腹部, 则脐水平线以上腹部腧穴为局部选穴, 四肢腧穴为远端选穴。因此, 本研究固定循经选穴(足三里), 分别配以局部取穴(中脘), 远端取穴(内关), 并予以成都中医药大学所制定非经非穴点对照, 观察不同取穴治疗DGP疗效差异。冀来喜等^[16]研究发现内关、中脘、足三里穴对急性胃黏膜损伤有很好的逆转作用, 并命名为腧穴胃病方。本课题组^[17]通过分析近5年针灸治疗DGP的临床文献发现, 使用频率较高的经脉为足阳明胃经(所属腧穴总频数占29.45%), 使用频次最高的穴位分别是足三里、中脘、内关。足三里为胃经之合穴, 胃之下合穴, 临床上常用于治疗胃肠道疾病, 故循经选穴为足三里; DGP在中医病症中属“痞满”、“恶心”、“呕吐”、“反胃”、“积滞”等范畴, 其病位在

同行评价

本文以DGP大鼠为研究对象, 观察不同的按部选穴针刺对DGP大鼠胃窦平滑肌RhoA/ROCK信号表达改变的差异, 探讨不同的腧穴配伍治疗本病的疗效差异, 证实按部选穴是腧穴配伍效应的影响因素, 具有一定研究价值。

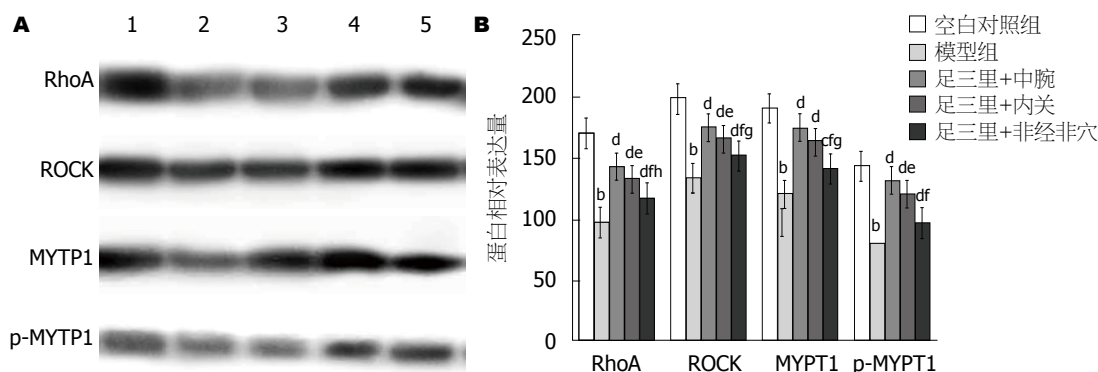


图4 各组大鼠RhoA、ROCK、MYPT1、p-MYPT1蛋白相对表达量。A: RhoA、ROCK1、MYPT1和p-MYPT1的蛋白电泳条带; B: 不同按部选穴RhoA、ROCK、MYPT1、p-MYPT1蛋白相对表达量。1: 空白对照组; 2: 模型组; 3: 足三里+非经非穴组; 4: 足三里+中脘组; 5: 足三里+内关组。^b $P<0.01$ vs 空白组; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ vs 模型组; ^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ vs 足三里+中脘组; ^g $P<0.05$, ^h $P<0.01$ vs 足三里+内关组。

胃, 中脘位于脐水平以上, 为胃之募穴, 是胃腑在胸腹面体表的投影, 能够直接作用于脏腑, 调节相应脏腑的机能, 故局部选穴为中脘; 内关穴位于腕关节上2寸, 属手厥阴心包经, 为本经络穴, 八脉交会穴通阴维脉, 临床上主要用于治疗心痛、心悸、胸痛; 胃痛、呕吐、呃逆等症, 故远部选穴为内关。则分组为空白组、DGP模型组、足三里+中脘组、足三里+内关组、足三里+非经非穴组。

RhoA/ROCK信号通路是一种Ca²⁺非依赖性的平滑肌收缩调节机制^[18], RhoA活化后引起一系列下游效应器激活而发挥生理作用, 其中ROCK是目前发现的涉及平滑肌收缩功能中最重要的下游效应靶分子^[19]。ROCK又称为Rho蛋白相关卷曲螺旋激酶, 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族的成员, ROCK主要通过磷酸化MLCP的调节亚单位MYPT1来调节平滑肌收缩^[20]。当上游的RhoA激活下游的ROCK后, 活化后的ROCK对MYPT-1肽链的697位苏氨酸进行磷酸化修饰为p-MYPT1, 抑制MLCP活性, 使得磷酸化肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)水平提升, 促进平滑肌收缩。因此, p-MYPT1的表达水平常被认为是ROCK活性的重要标志^[21]。Ratz等^[22]发现ROCK参与调节兔胃底平滑肌的收缩, Tomomassa等^[23]研究发现在生理状态下ROCK抑制剂Y-27632可引起意识清醒大鼠胃平滑肌的收缩力急剧下降。研究推测^[24-26]DM胃轻瘫的发生可能部分与RhoA/ROCK信号通路被抑制有关, DM大鼠胃平滑肌组织中RhoA蛋白和ROCK蛋白、p-MYPT1蛋白表

达减少, RhoA/ROCK信号转导途径表达下调。侯东杰^[27]通过采用活血化瘀中药上调RhoA/ROCK信号通路的表达, 促进DGP大鼠胃平滑肌收缩, 进而改善胃排空。

本研究结果显示, 针刺治疗能够促进DGP大鼠的胃肠功能的改善, 且针刺治疗能促进RhoA、ROCK、MYPT1、p-MYPT1蛋白表达水平升高, 不同配穴组上升水平有差异。模型组的胃肠推进率较正常对照组减慢($P<0.01$), DGP模型大鼠的胃窦组织RhoA与空白对照组比较明显减少($P<0.01$), 与以往的实验研究结果一致^[20], 说明DGP模型造模成功。三组针刺干预组经治疗后胃肠推进率提高, 且胃窦平滑肌组织的RhoA、ROCK、MYPT1、p-MYPT1表达水平虽低于空白对照组, 但较模型组有明显升高($P<0.01$)。实验结果说明: (1)针刺对DGP的治疗作用可能通过促进组织RhoA、ROCK等蛋白表达, 增强p-MLC的水平, 促进平滑肌收缩, 改善胃排空; (2)针刺能通过上调RhoA/ROCK信号的表达来改善DGP的症状, 各配伍组改变的差异证实按部选穴是影响腧穴配伍效应的重要因素, 且配伍局部穴明显优于配伍远端穴及非经非穴。

足三里为足阳明胃经之合穴, 胃下合穴, 凡胃脘疼痛, 不论其寒热虚实, 均可用之通调腑气; 中脘为任脉穴, 为胃之募穴, 八会穴之腑会, 且是任脉、手太阳、足阳明经交会穴, 两穴相配可调胃气, 疏导中焦, 导滞止痛。内关为手厥阴心包经之络穴, 沟通三焦, 功擅理气降逆, 又为八脉交会穴, 通于阴维脉, 足三里与内关相配能畅达三焦气机, 和胃降逆。本课题

组研究发现足三里+中脘穴组优于足三里+内关组和非经非穴组, 即配伍局部穴优于配伍远端穴及非经非穴。

局部选穴优于远端选穴的原因可能与局部穴位特异性相关。局部选穴是指受病的脏腑、五官、肢体部位选取腧穴, 旨在就近调整受病部位的气血阴阳, 是“腧穴所在, 主治所及”的具体体现^[28]。针灸治疗具有明确的针对性, 《针灸甲乙经》曰: “胃胀者, 中脘主之。”《针灸聚英》中治疗眩晕取风池、天柱; 《内经》中“以痛为腧”, 也是针对病变部位的选穴原则。电针局部取穴对佐剂关节炎大鼠痛觉过敏具有调整作用^[29]。采用局部取穴治疗颈型颈椎病和脊髓损伤后尿储留在临床上取得显著疗效^[30,31], 患者症状得到明显改善。研究^[32]表明, 按病位取穴, 刺病之所在部位, 具有良好的靶点效应, 为局部选穴优于远部选穴的原因。但本实验仅以DGP作为载体进行研究得出结论, 不同的疾病具有其不同症候特点, 按部选穴在治疗其他病种是否具有同种优势, 还有待进一步考证。

4 参考文献

- Kassander P. Asymptomatic gastric retention in diabetics (gastroparesis diabeticorum). *Ann Intern Med* 1958; 48: 797-812 [PMID: 13521605]
- Camilleri M, Parkman HP, Shafi MA, Abell TL, Gerson L. Clinical guideline: management of gastroparesis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 18-37; quiz 38 [PMID: 23147521 DOI: 10.1038/ajg.2012.373]
- 吴波, 郑长青, 林连捷, 周卓. 糖尿病性胃肠病变患者血浆P物质和胃动素的水平及意义. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 367-368
- 姚东英, 刘菲. 糖尿病胃轻瘫发病机制的研究进展. *国际消化病杂志* 2011; 31: 16-17
- Murthy KS. Signaling for contraction and relaxation in smooth muscle of the gut. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 345-374 [PMID: 16460276]
- Gerthoffer WT. Signal-transduction pathways that regulate visceral smooth muscle function. III. Coupling of muscarinic receptors to signaling kinases and effector proteins in gastrointestinal smooth muscles. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G849-G853 [PMID: 15826932]
- 刘丽, 岳增辉, 陈小丽, 魏歆然. 糖尿病胃轻瘫的中医治疗研究进展. *针灸临床杂志* 2015; 31: 91-93
- 刘要红. 针刺联合艾灸治疗脾胃气虚型糖尿病性胃轻瘫疗效观察. *医学信息* 2014; 27: 389-390
- 孙国杰, 王述菊, 杜艳军, 胡和平, 吴绪平, 孔立红. 不同穴位对胃运动异常大鼠双向调节效应研究. *中国针灸* 2007; 27: 839-843
- 徐泽, 孔熠, 原晓东, 杜广中. 糖尿病胃轻瘫现代针灸腧穴应用研究. *中国文献杂志* 2015; 33: 67-68
- 万全荃, 贺凤娥, 林亚平. 糖尿病胃轻瘫大鼠模型衍生过程相关指标的观察. *湖南中医药大学学报* 2014; 10: 6-10
- 李忠仁. 实验针灸学. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-257
- 张国雪, 刘昊, 王富春. 论腧穴配伍与针灸处方. *中国针灸* 2014; 34: 987-990
- 袁建菱, 薛晓. 腧穴配伍效应的影响因素. *中华中医药学刊* 2015; 33: 2115-2117
- 郑嘉太, 陈波, 郭永明. 影响腧穴配伍效应差异的因素分析. *中国针灸* 2015; 35: 719-722
- 冀来喜, 闫丽萍, 王海军, 李亮, 何伟, 贲卉, 朱兵. 针刺“内关”“中脘”“足三里”对背侧网状亚核神经元放电的影响. *针刺研究* 2009; 34: 27-30
- 李萍, 岳增辉, 文琪琦, 王艳. 针灸治疗糖尿病胃轻瘫临床对照文献选穴规律分析. *针灸临床杂志* 2015; 31: 37-39
- Sanders KM. Regulation of smooth muscle excitation and contraction. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20 Suppl 1: 39-53 [PMID: 18402641 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01108.x]
- Sato M, Tani E, Fujikawa H, Kaibuchi K. Involvement of Rho-kinase-mediated phosphorylation of myosin light chain in enhancement of cerebral vasospasm. *Circ Res* 2000; 87: 195-200 [PMID: 10926869]
- 窦娟. 外源性SCF对糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦平滑肌RhoA/ROCK信号通路的影响. 重庆: 重庆医科大学, 2012
- 孙晓萌, 朱滢, 王庆娥, 柏建安, 林琳. RhoA/ROCK信号通路在糖尿病结肠肌层中的表达. *胃肠病学* 2014; 19: 673-677
- Ratz PH, Meehl JT, Eddinger TJ. RhoA kinase and protein kinase C participate in regulation of rabbit stomach fundus smooth muscle contraction. *Br J Pharmacol* 2002; 137: 983-992 [PMID: 12429570]
- Tomomasa T, Takahashi A, Kaneko H, Watanabe T, Tabata M, Kato M, Morikawa A. Y-27632 inhibits gastric motility in conscious rats. *Life Sci* 2000; 66: PL29-PL34 [PMID: 10666015]
- Bhetwal BP, An C, Baker SA, Lyon KL, Perrino BA. Impaired contractile responses and altered expression and phosphorylation of Ca(2+) sensitization proteins in gastric antrum smooth muscles from ob/ob mice. *J Muscle Res Cell Motil* 2013; 34: 137-149 [PMID: 23576331 DOI: 10.1007/s10974-013-9341-1]
- Wang Y, Xu XY, Tang YR, Yang WW, Yuan YF, Ning YJ, Yu YJ, Lin L. Effect of endogenous insulin-like growth factor and stem cell factor on diabetic colonic dysmotility. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3324-3331 [PMID: 23745035 DOI: 10.3748/wjg.v19.i21.3324]
- 朱滢, 孙晓萌, 王云, 巩尧瑶, 林琳. 糖基化终末产物和磷酸化肌球蛋白轻链在糖尿病结肠动力障碍中的作用. *胃肠病学* 2014; 19: 328-331
- 侯东杰. 活血化痰通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠RhoA/ROCK信号转导通路的影响. 河北: 河北医科大学, 2015
- 沈雪勇. 经络腧穴学. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 25-28
- 房连强, 谭朝坚, 古利花, 袁双双, 彭菊华. 以斜方肌起止点为针刺主要靶点治疗颈性眩晕临床观察. *中国中医药信息杂志* 2012; 19: 64-65

- 30 王升旭, 洪军, 赖新生. 电针夹脊穴及局部取穴对佐剂关节炎大鼠痛觉异常的调整作用. 新中医 2000; 32: 29-30
- 31 龚娟娟. 齐刺电针配合局部取穴治疗脊髓损伤尿潴留的临床疗效观察. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2012: 6
- 32 邓云志. 局部取穴平刺微创埋线治疗颈型颈椎病观察. 中国民间疗法 2011; 19: 2

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

本刊讯 为了促进消化护理学领域的事业发展,《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授(http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard_706.htm)等77位专家组成, 分布在24个省市. 其中上海市11位, 陕西省8位, 山东省7位, 黑龙江省7位, 辽宁省6位, 北京市5位, 广东省5位, 河北省3位, 贵州省3位, 湖北省2位, 浙江省2位, 四川省2位, 福建省2位, 江苏省2位, 云南省2位, 新疆维吾尔自治区2位, 甘肃省1位, 海南省1位, 江西省1位, 山西省1位, 天津市1位, 安徽省1位, 河南省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师16位, 教授1位, 副主任护师49位, 副教授4位, 主管护师7位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志(World Journal of Gastroenterology, WJG)》.(郭鹏)



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

