

文章编号: 1005-0957 (2024) 04-0456-08

• 动物实验 •

电针对胰岛素抵抗大鼠下丘脑自噬活性的影响

杨鸿静, 张萌, 吴松, 王静芝

(湖北中医药大学, 武汉 430061)

【摘要】 目的 观察电针对胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)大鼠下丘脑自噬调控基因 Atg1、Atg13 和 Beclin-1 表达及糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK3 β)表达的影响, 探究针刺治疗 IR 的潜在机制。**方法** 将 45 只清洁级 Wistar 大鼠随机分为正常组(15 只)和模型制备组(30 只)。正常组予常规饲养, 模型制备组予高脂饲料和 10% 的果糖水饲养 8 周, 制备 IR 模型。造模成功后, 将模型制备组 30 只大鼠随机分为模型组(15 只)和电针组(15 只)。电针组大鼠行电针干预。分别于造模成功后及干预后, 采用微量血糖仪和酶联免疫吸附法测定大鼠空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)及空腹胰岛素(fasting insulin, FINS), 计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, IRI), 评定大鼠 IR 程度。用 Western blot 和 real-time PCR 法检测下丘脑组织 Atg1、Atg13、Beclin-1、GSK3 β mRNA 和蛋白表达, 评价电针对胰岛素抵抗大鼠下丘脑自噬活性的影响。**结果** 造模后, 与正常组比较, 模型制备组大鼠 IRI 均明显升高($P < 0.05$)。干预后, 与正常组比较, 模型组大鼠 Atg1、Atg13、Beclin-1、GSK3 β mRNA 和蛋白表达升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 电针组 Atg1、Atg13、Beclin-1、GSK3 β mRNA 和蛋白表达均降低($P < 0.05$), IRI 降低($P < 0.05$)。**结论** 电针可明显改善高脂高糖诱导的 IR, 其机制可能与下调自噬相关因子 Atg1、Atg13、Beclin-1 表达从而抑制下丘脑细胞过度自噬以及降低 GSK3 β 的表达有关。

【关键词】 针刺疗法; 电针; 胰岛素抵抗; 血糖; 自噬; 下丘脑; 大鼠

【中图分类号】 R2-03 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2024.04.0456

Effect of electroacupuncture on autophagy activity in the hypothalamus of insulin resistant rats YANG Hongjing, ZHANG Meng, WU Song, WANG Jingzhi. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China

[Abstract] Objective To observe the effects of electroacupuncture on the expression of autophagy regulatory genes Atg1, Atg13, Beclin 1, and glycogen syn-thase kinase-3 (GSK3 β) protein in the hypothalamus of insulin resistant rats and explore the potential mechanism of acupuncture in treating insulin resistance. **Method** Forty-five clean Wistar rats were randomly divided into a normal group (15 rats) and a modeling group (30 rats). The normal group was fed conventionally, and the modeling group was fed a high-fat diet with 10% fructose water for 8 weeks to prepare the insulin resistant rat model. After successful modeling, 30 rats in the modeling group were further randomized into a model group (15 rats) and an electroacupuncture group (15 rats). Rats in the electroacupuncture group received electroacupuncture intervention. The fasting blood glucose (FBG) and fasting insulin (FINS) were detected using a micro-glucometer and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the insulin resistance index (IRI) was calculated to evaluate the degree of insulin resistance. The mRNA and protein expression levels of Atg1, Atg13, Beclin-1, and GSK3 β in the hypothalamus tissues were examined using Western blot and real-time polymerase chain

基金项目: 国家自然科学基金项目(81904276); 湖北省卫生健康委员会中医药科研项目青年基金项目(ZY2021Q008); 针灸治未病湖北省协同创新项目(HBPCIC-2020-08); 国家中医药管理局岐黄工程项目[国中医药人教函(2018)284号]

作者简介: 杨鸿静(1997—), 女, 2020 级硕士生, Email: 626794173@qq.com

通信作者: 王静芝(1983—), 女, 副教授, 博士, Email: 182179503@qq.com

reaction (PCR) to assess the effect of electroacupuncture on autophagy activity in the hypothalamus of insulin resistant rats. **Result** After modeling, the IRI increased markedly in the modeling group compared with the normal group ($P < 0.05$). After the intervention, the mRNA and protein expression levels of Atg1, Atg13, Beclin-1, and GSK3 β increased in the model group compared with the normal group ($P < 0.05$); compared with the model group, the mRNA and protein expression levels of Atg1, Atg13, Beclin-1, and GSK3 β dropped in the electroacupuncture group ($P < 0.05$), as well as the IRI ($P < 0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture can significantly improve insulin resistance induced by high fat and high sugar. The mechanism may be related to inhibiting the excessive autophagy of hypothalamic cells by down-regulating the expression of autophagy-related factors Atg1, Atg13, and Beclin-1 and reducing the expression of GSK3 β .

[Key words] Acupuncture therapy; Electroacupuncture; Insulin resistance; Blood glucose; Autophagy; Hypothalamus; Rats

细胞自噬是细胞内成分在自身溶酶体中组分降解后再利用的过程,正常状态下,机体自噬处于较低水平,但当外界条件(如饥饿、缺氧、感染等)或内部条件(如细胞器损伤等)发生变化时,自噬则被诱导发生。在病理状态下,自噬就像一把双刃剑,轻度的自噬在一定程度上可保护细胞免受有害条件影响;重度或快速的自噬则会诱导细胞程序性死亡,即自噬性细胞凋亡^[1]。近年来,随着自噬功能对中枢神经系统影响研究的深入,研究^[2]发现,自噬在保证神经元结构完整,维持神经系统功能正常发挥的过程中扮演着关键角色。下丘脑是中枢神经系统的重要组成部分,可通过神经调节反射弧结构中的传出神经作用于胰岛细胞,参与胰岛素的分泌,进而影响胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)的发生发展^[3],故下丘脑作为中枢 IR 发生的核心脑区^[4],自噬活性对中枢胰岛素信号传导的影响机制的研究已成为胰岛素抵抗相关研究的重点和热点。大量研究^[5-7]表明,参与 IR 的许多机制,如胰岛素信号转导障碍、线粒体功能损伤、内质网应激、游离脂肪酸等,都与细胞的自噬过程有关。因此,本研究基于高脂高糖饮食诱导的 IR 模型,以自噬活性为靶点,通过观察自噬活性指标(Atg1、Atg13、Beclin-1)及中枢胰岛素信号传导分子[糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK3 β)]的变化,阐释电针通过调控下丘脑自噬活性,影响中枢胰岛素信号传导,进而改善 IR 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

45 只 SPF 级 8 周龄雄性 Wistar 大鼠,体质量

(280 $\pm$ 20) g,购于湖北省实验动物研究中心[生产许可证号 SCXK(鄂)2020-0018]。饲养于湖北中医药大学黄家湖校区实验动物中心,温度控制在 22~26 °C,相对湿度控制在 45%~75%,遵循 12 h/12 h 明暗周期,所有大鼠均可自由摄食饮水。适应性饲养 3 d 后,随机分为两组,正常组(15 只)和模型制备组(30 只)。待造模成功后,再将模型制备组随机分为两组,即模型组(15 只)和电针组(15 只)。实验过程中对动物的处置均符合中华人民共和国科学技术部 2006 年发布的《关于善待实验动物的指导性意见》。

1.2 主要仪器与试剂

RNA 提取液(武汉赛维尔),异丙醇、三氯甲烷和 TBST 缓冲液(国药集团),BCA 蛋白浓度测定试剂盒和 RIPA 裂解液(上海碧云天),蛋白 marker(北京海利克思),小鼠单抗 β -actin、HRP 标记羊抗兔二抗和 HRP 标记羊抗小鼠二抗(武汉博士德),兔多抗 p-gsk3b 和兔单抗 atg13(英国 Abcam),兔多抗 atg1 和兔多抗 beclin1(武汉三鹰)、ECL 底物液(北京普利莱),高脂饲料(货号 D12492)。

一次性无菌针灸针(0.30 mm $\times$ 15 mm,苏州医疗用品厂有限公司),酶标仪、超微量分光光度计和酶联免疫吸附法试剂盒(美国 Thermo),血糖测试仪(江苏鱼跃),离心机(湖南湘仪实验室),荧光定量 PCR 检测仪(美国 Bio-rad),离心管和 TIP 头(武汉赛维尔),水平摇床(江苏海门其林贝尔),pH 计(德国 Metter-Toledo GmbH)和电子天平(北京赛多利斯),电针治疗仪(南京济生)。

1.3 模型制备

正常组予标准啮齿类动物饲料喂养直至整个实验

结束,自由饮用自来水。模型制备组大鼠予8周的高脂饲料(脂肪58.8%,蛋白质15.2%,碳水化合物26.0%)及10%的果糖水喂养后,进行尾静脉采血检测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)和空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)。检测FBG和FINS前,大鼠禁食12 h。计算大鼠的胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, IRI), $IRI = [FPG(mmol/L) \times FINS(mIU/L)] / 22.5$ 。当模型制备组大鼠IRI较正常组大鼠明显升高($P < 0.001$)时,提示IR模型构建成功^[8]。造模成功后,正常组喂养不变,将模型制备组随机分为模型组(15只)和电针组(15只)。模型组和电针组继续采用高脂饲料和10%的果糖水喂养,直至整个实验结束。电针组有3只大鼠于造模过程中死亡。干预后,为保证各组别间误差最小,对正常组与模型组采用随机数字法各选取大鼠12只进行取材。

1.4 干预方法

造模成功后,正常组不予任何针刺干预,模型组不予任何针刺干预,电针组采取电针干预。电针干预方法具体如下。根据“标本配穴”法,取关元和足三里(双侧)为本穴,取丰隆(双侧)和中脘为标穴,参照《实验针灸学》^[9]的标准进行定位;选用0.30 mm×15 mm不锈钢毫针,足三里和丰隆均直刺3~5 mm,关元穴选择向剑突方向斜刺3~5 mm,中脘穴选择向耻骨联合方向斜刺3~5 mm;采用韩氏电针治疗仪,同侧足三里和丰隆连接同一组电极,关元和中脘穴连接另一组电极,连续波,频率2 Hz,强度1 mA,通电时间10 min;每周针刺3次,共8周,直至实验结束。

1.5 观察指标与检测方法

1.5.1 FBG、FINS 和 IRI

于造模成功后及干预后,即实验的第8周和第16周,均采用尾静脉采血的方式,对所有大鼠的FBG和FINS进行测量并记录,并计算IRI。

1.5.2 透射电镜下直接观察自噬小体的形态

前固定,剥离大鼠下丘脑,剪取1 mm×1 mm大小的大鼠下丘脑组织放入2.5%的戊二醛溶液,4℃固定2~4 h。后固定,PBS溶液漂洗组织3次,每次15 min,后转入1%锇酸固定液固定2~3 h,再次用PBS冲洗3次,每次15 min。脱水,需要用不同浓度的乙醇进行室温脱水,依次按照30%乙醇(20 min)—50%乙醇(20 min)—70%乙醇(20 min)—80%乙醇(20 min)—95%乙醇(20 min)—100%乙醇(20 min)—100%乙醇(20 min)

顺序进行,再置于100%丙酮30 min共3次。包埋和聚合,812包埋剂1:1室温4 h,812包埋剂1:2室温过夜,纯包埋液室温放置5 h后将其倒入包埋板中,组织样品插入包埋板,37℃烘箱过夜,包埋板放60℃烤箱聚合48 h,取出树脂标本。切片,超薄切片机进行切片,厚度约60 nm。染色,将铜网至于4%醋酸铀溶液中进行染色,时间30 min,超纯水清洗3次,再用0.5%柠檬酸铅溶液染色5 min,超纯水清洗3次,滤纸吸干,室温干燥过夜。电镜观察,采用透射电镜对切片进行图像采集,观察自噬体超微结构并进行分析。

1.5.3 采用 real-time PCR 技术检测 3 组大鼠下丘脑组织 GSK3β、Atg1、Atg13、Beclin-1 mRNA 表达水平

称取100 mg大鼠下丘脑组织,提取总RNA后检测RNA浓度及纯度,配制逆转录反应体系,进行逆转录反应,25℃5 min,42℃30 min,85℃5 s,将RNA转换成cDNA,上下游引物序列见表1。实时荧光定量PCR反应程序,95℃10 min,95℃15 s,60℃60 s,40个循环。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析GSK3β、Atg1、Atg13、Beclin-1 mRNA相对表达量。

表1 引物序列

基因	序列(5' -3')	扩增长度(bp)
Atg 1	上游:ACCACCTCGAACCGTACACT	222
	下游:GCAATCTCCATAGGTTTCTCTCTG	
Atg 13	上游:GTTTCATCATCTTCCCCGACG	273
	下游:TAGCAAGGAGAGACTTCAGCAGC	
Beclin 1	上游:AGGAGTTGCCGTGTACTGTTCT	178
	下游:GTGTCTTCAATCTTGCCTTTCTCC	
Gsk3β	上游:CACTGTAACATAGTCCGATTGCG	117
	下游:TCTGGCGACTCTGTACACTGTTT	
GAPDH	上游:CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	138
	下游:GGTGAAGAATGGGAGTTGCT	

1.5.4 采用 Western blot 法检测大鼠下丘脑 Atg1、Atg13、Beclin-1、p-GSK3β 蛋白表达水平

取大鼠下丘脑组织,加200 μL裂解液裂解(含2 μL PMSF、2 μL磷酸酶抑制剂),匀浆,裂解,离心,取上清,置于-20℃保存。BSA标准品稀释为浓度1 μg/μL、0.8 μg/μL、0.6 μg/μL、0.4 μg/μL及0.2 μg/μL的标准蛋白,酶标仪测定OD值后计算蛋白浓度。金属浴95℃10 min,使蛋白变性。制备SDS-PAGE凝胶,上样、电泳、转膜。PVDF膜浸泡于5%脱脂奶粉,封闭2 h,(磷酸化蛋白用1%BSA封闭2 h)加入一抗(Atg1

1:1000, Atg13 1:1000, Beclin-1 1:1000, p-GSK3β 1:1 000, β-actin 1:500), 4 ℃过夜, 洗膜, 封闭液稀释二抗(羊抗小鼠 IgG 1:10 000, 羊抗兔 IgG 1:10 000), 室温摇床孵育 2 h, 使用 ECL 工作液显色, 扫描胶片。以β-actin 为内参蛋白, 用 Bandscan 软件分析目的蛋白的灰度值。

1.6 统计学分析

使用 SPSS23.0 统计软件对实验数据进行统计分析。计量资料采用均数±标准差表示, 若符合正态分布及方差齐性, 组间差异比较用单因素方差分析, 两两比较用 LSD 检验; 不符合正态分布或方差不齐时, 组间比

较用秩和检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。Graphpad Prism 9.4.0 软件整理生成统计图。

2 结果

2.1 3 组大鼠 FPG、FINS 和 IRI 水平变化比较

造模后, 与正常组比较, 模型制备组大鼠 FPG、FINS 和 IRI 均明显升高($P<0.05$), 表示造模成功, 详见表 2。干预后, 与正常组比较, 模型组和电针组大鼠 FPG、FINS 和 IRI 均升高($P<0.05$); 与模型组比较, 电针组 FPG、FINS 和 IRI 均降低($P<0.05$), 详见表 3。

表2 造模后大鼠FPG、FINS和IRI水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FPG/(mmol · L ⁻¹)	FINS/(mU · L ⁻¹)	IRI
正常组	15	5.76±0.37	14.72±0.96	3.77±0.45
模型制备组	30	10.49±1.17 ¹⁾	31.29±2.26 ¹⁾	14.70±2.57 ¹⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P<0.05$ 。

表3 3组大鼠FPG、FINS和IRI水平比较($\bar{x} \pm s$)

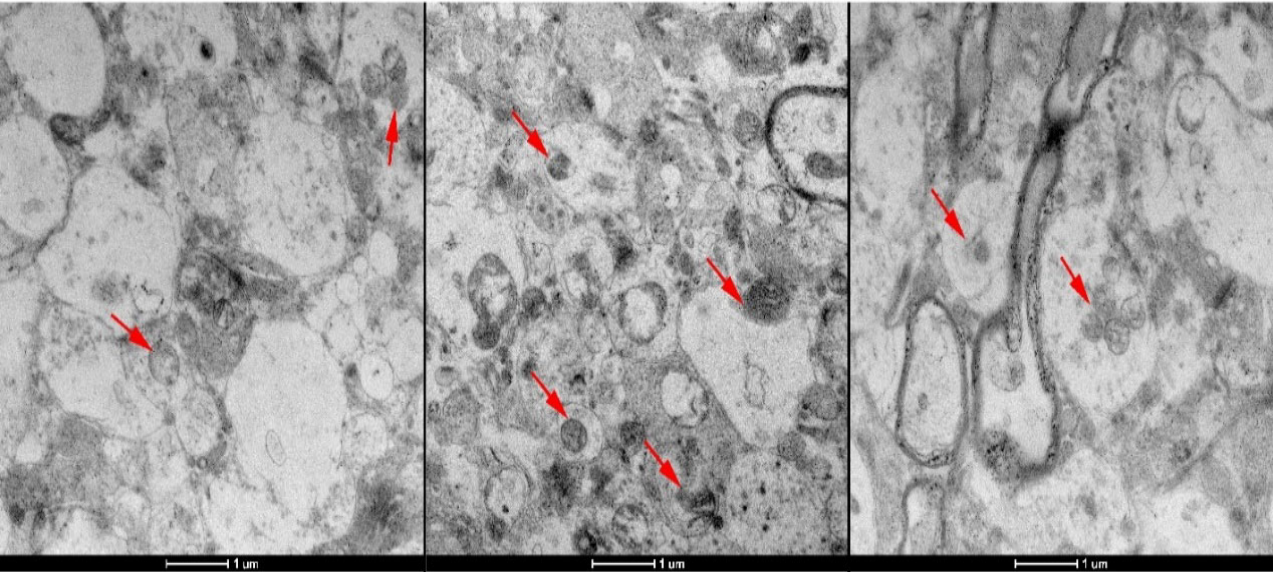
组别	<i>n</i>	FPG/(mmol · L ⁻¹)	FINS/(mU · L ⁻¹)	IRI
正常组	12	6.10±0.53	14.11±0.60	3.83±0.45
模型组	12	11.18±0.54 ¹⁾	31.72±1.59 ¹⁾	15.77±1.27 ¹⁾
电针组	12	8.26±0.72 ¹⁾²⁾	27.25±1.58 ¹⁾²⁾	10.03±1.31 ¹⁾²⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较²⁾ $P<0.05$ 。

2.2 透射电镜技术观察自噬体与自噬溶酶体变化

与正常组比较, 模型组大鼠下丘脑出现大量功能障碍的自噬空泡, 空泡中含有未降解的电子致密物, 双

层膜结构不完整。与模型组比较, 电针组的双层膜结构完整, 致密物减少。详见图 1。



正常组

模型组

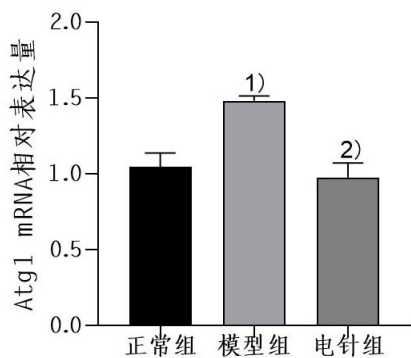
电针组

注: 红色箭头表示自噬小体。

图1 各组大鼠下丘脑自噬小体电镜图(25k×)

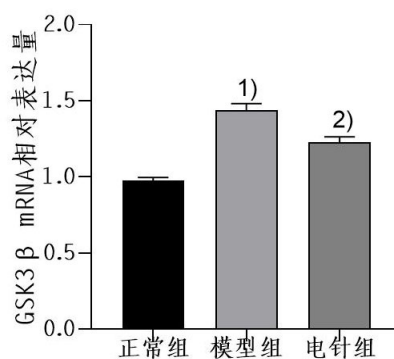
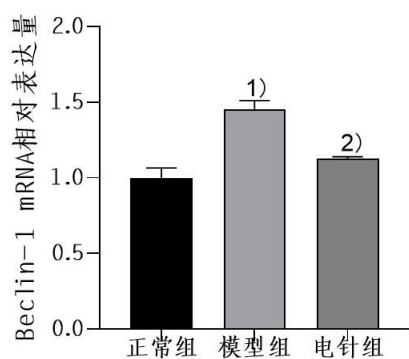
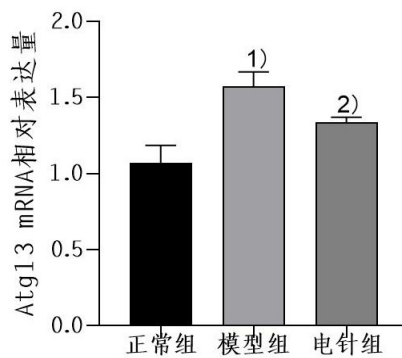
2.3 3组大鼠下丘脑组织 Atg1、Atg13、Beclin-1、GSK3 β mRNA 表达比较

与正常组比较,模型组大鼠下丘脑组织 Atg1、Atg13、Beclin-1、GSK3 β 表达均升高($P<0.05$);与模型组比较,电针组 Atg1、Atg13、Beclin-1、GSK3 β 表达均降低($P<0.05$)。详见图 2。



2.4 3组大鼠下丘脑组织 Atg1、Atg13、Beclin-1、p-GSK3 β 蛋白表达比较

与正常组比较,模型组大鼠下丘脑组织 Atg1、Atg13、Beclin-1、p-GSK3 β 蛋白表达均升高($P<0.05$);与模型组比较,电针组 Atg1、Atg13、Beclin-1、p-GSK3 β 蛋白表达均降低($P<0.05$)。详见图 3 和图 4。



注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$ 。

图 2 3组大鼠下丘脑组织 Atg1、Atg13、Beclin-1、GSK3 β mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

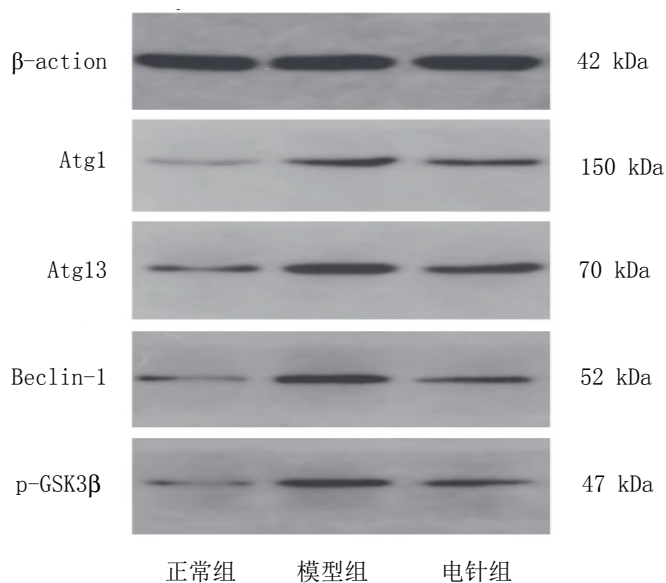
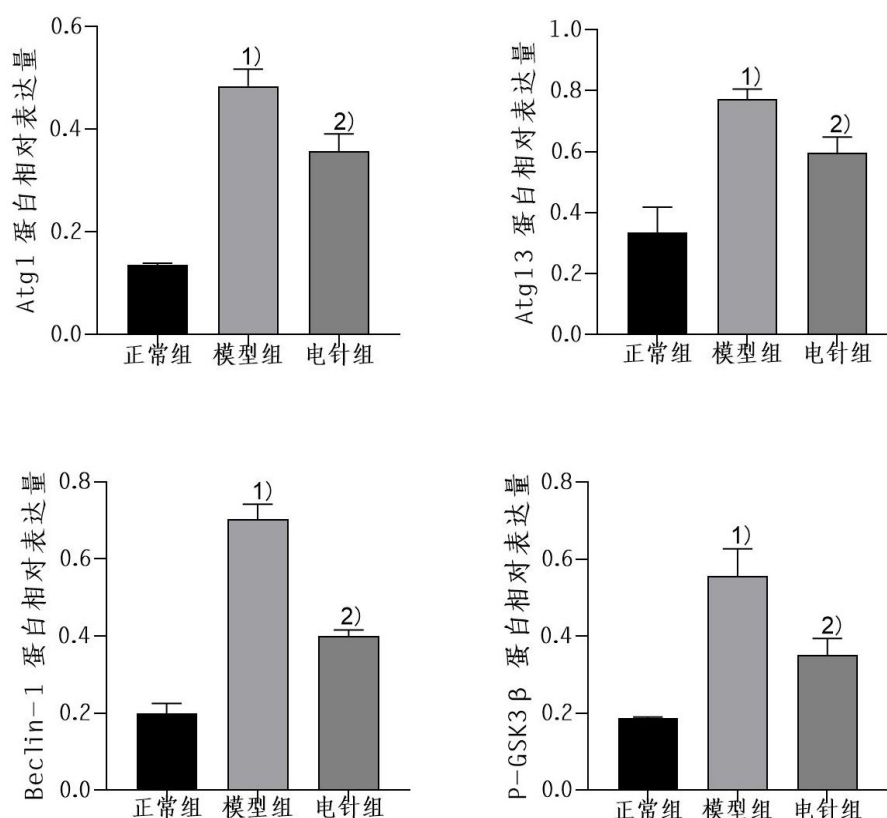


图 3 3组大鼠下丘脑组织 Atg1、Atg13、Beclin-1、GSK3 β 蛋白表达



注:与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

图 4 3 组大鼠下丘脑组织 Atg1、Atg13、Beclin-1、p-GSK3β 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

3 讨论

胰岛素抵抗 (IR) 属中医学“消渴”范畴, 多因素体阴虚、恣食肥甘、情志不遂、劳欲过度所致, 其中平素饮食不节, 过食肥甘厚味为主要病因^[10]。本实验中 8 周的高脂高糖饮食喂养类似于长期“过食肥甘厚腻”, 久之则中焦壅滞, 运化失常, 湿聚痰生, 热积津伤, 发为消渴。正如《素问·奇病论》所记载“肥者令人内热, 甘者令人中满”。《太平圣惠方·卷五十三》亦记载“三消者……或为食肥美之所发也”。纵观胰岛素抵抗的发生发展, 其病位主要在脾、胃、肾, 以肥腻伤脾、痰湿内盛为标, 以先天禀赋不足、正气亏虚为本^[11]。故基于中医学对胰岛素抵抗病因病机的认识, 本研究确立标本兼顾为治则, 固护脾胃、培补正气的同时化痰消脂、祛邪除湿, 标本同治以达到正盛邪退而病愈的目的。关元穴为任脉经之腧穴, 又处足三阴经与任脉交会处, 亦为元阴、元阳交关之所, 有增益人体之元气、强身健体的功效; 足三里穴为足阳明胃经之合穴、下合穴, 且阳明经气血充盈, 故针刺该穴可补益脾胃, 调养气血, 增强人体免疫力。二穴配伍以固先天之本, 护后天之气, 正气方可存于体内。丰隆穴为足阳明胃经之络穴, 也被

称为治疗痰疾之要穴, 针刺该穴以调整气机使中土得运, 痰湿自化; 中脘穴属任脉腧穴, 为八会穴之腑会, 胃之募穴, 故针刺中脘穴有通调脏腑之气, 清除胃肠瘀滞的效用。二穴相配以行理气化痰, 消滞降脂之治标功效。电针疗法对 IR 作用显著, 可帮助 IR 患者提升对于胰岛素的敏感性^[12]。本研究结果示, 经 8 周针刺治疗后, 电针组 FPG 和 FINS 降低, IRI 明显降低, 与之前的研究^[13-14]一致。

自噬在诱导阶段主要通过 ATG1 复合物 (Atg1, Atg13、ATG17/FIP200 等) 的介导, Beclin-1 是自噬的常见标志蛋白之一, 也常被用作自噬诱导的标志, Atg1、Atg13、Beclin1 三者均为自噬体形成过程中重要的正向调控因子^[15]。但自噬体属于亚细胞结构, 普通光镜下看不到, 直接在透射电镜下观察自噬不同阶段的形态变化是一种非常直接的方法。本实验透射电镜下自噬小体表现为双层膜囊泡结构。故本实验中胰岛素抵抗大鼠下丘脑 Atg1、Atg13、Beclin-1 表达增加, 说明自噬活性增强, 结合透射电镜技术观察自噬体与自噬溶酶体发现, 模型大鼠下丘脑可见大量功能障碍的自噬空泡, 空泡中含有未降解的电子致密物, 双层膜

结构不完整,提示胰岛素抵抗状态下,大鼠下丘脑自噬小体异常增加。经过8周电针干预后,电针组大鼠下丘脑 Atg1、Atg13、Beclin-1 表达降低,电镜显示空泡中的致密物有所减少,说明电针抑制大鼠下丘脑自噬水平。胰岛素抵抗会加剧氧化应激、细胞器损伤以及自噬活化状态^[16-17]。针刺作为调控自噬相关蛋白表达及信号通路,改善疾病的有效方法之一,其对自噬的调节也有着双重作用,针刺不仅可以促进自噬,清除病理产物,而且还可以抑制自噬,抵抗不同疾病时期的细胞死亡^[18]。研究^[19]表明电针可通过调节 Atg1、mTOR 等自噬相关蛋白的表达来抑制创伤区皮层神经元自噬的过度活化,进而发挥脑保护作用。研究^[20]表明电针实现减重效应,与激活大鼠白色脂肪组织中 mTOR/P70S6K 信号通路,抑制脂肪组织过度自噬有关。针刺通过上调或下调自噬相关通路和蛋白的活性直接促进或抑制自噬过程。目前,以调节自噬活性为靶点将为针刺作为一种良性刺激防治疾病的研究提供新思路。

糖原合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase-3, GSK-3)是一种存在于所有真核细胞质中的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,分为 α 和 β 两种亚型,其中 GSK3 β 富集于中枢神经系统,尤其在海马组织中表达丰富。近年国内外均有相关研究提出 GSK3 β 的高表达与胰岛素敏感性降低呈相关性^[21-22],当 GSK3 β 活性异常升高,胰岛素信号传导削弱,体内糖的利用、糖原合成等过程则受到抑制,从而出现 IR。目前,GSK3 β 抑制受损已成为外周组织和中枢神经系统胰岛素抵抗的既定特征,因此本实验在经8周治疗后检测 GSK3 β 蛋白和 mRNA 的表达,以观察中枢胰岛素信号传导状况。本实验结果显示,与正常组相比,模型组大鼠 GSK3 β mRNA 和蛋白表达上调,8周电针干预后,电针组 GSK3 β 表达降低,说明电针干预中枢胰岛素信号传导。

本实验中长期的高脂高糖饲养成功诱导 IR 模型,导致自噬相关因子活性上升,中枢胰岛素信号调控分子 GSK3 β 表达上升。而经8周针刺干预后,电针组 Atg1、Atg13、Beclin-1 表达下降,GSK3 β 表达降低,IRI 明显减轻,表明电针改善高脂高糖诱导的 IR,可能与降低 Atg1、Atg13、Beclin1 活性,降低 GSK3 β 的表达,改善中枢胰岛素信号传导有关。

综上所述,电针可通过下调自噬相关因子 Atg1、Atg13、Beclin-1 的表达抑制下丘脑细胞过度自噬,降

低 GSK3 β 的表达影响中枢胰岛素信号传导,进而发挥改善 IR 的作用。

参考文献

- [1] 付晶晶,段君凯,李红.细胞自噬与凋亡的交互作用[J].生命的化学,2014,34(5):649-653.
- [2] ASFOGO N, AKBAR D, MELKI R, *et al.* Studying mitophagy in neuronal models of α -synucleinopathy with the fluorescent MitoRosella reporter[J]. *BBA-Bioenergetics*, 2022:1863(S).
- [3] MERLY C, VOGT J C. Brüning. CNS insulin signaling in the control of energy homeostasis and glucose metabolism from embryo to old age[J]. *Trends Endocrinol Metabol*, 2013, 24(2):76-84.
- [4] 庄舒婷,李瑞,宋姗姗,等.电针对糖尿病肥胖大鼠下丘脑 SOCS3、IRS-1 蛋白表达及胰岛形态的影响[J].中国针灸,2022,42(9):1024-1028.
- [5] BARLOW A D, THOMAS D C. Autophagy in diabetes betacell dysfunction. insulin resistance. and complications[J]. *DNA Cell Biol*, 2015, 34(4):252-260.
- [6] 李楚婷,赵天娇,黄琼.从自噬在胰岛 β 细胞中的作用探讨糖尿病治疗的药物靶点[J].中国临床药理学与治疗学,2020,25(3):344-351.
- [7] 张哲,王杏,杨林泉,等.利拉鲁肽通过调控 AMPK/mTOR 自噬信号减轻糖尿病大鼠心肌炎症和氧化应激损伤[J].中国药理学通报,2022,38(9):1308-1314.
- [8] 陈霞,岳枫,靳冉,等.高脂饲料诱导不同品系大鼠胰岛素抵抗模型的比较研究[J].山西中医学院学报,2013,14(4):9-12.
- [9] 李忠仁.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2003:25.
- [10] 田佳星,李敏,仝小林.过食肥甘与糖尿病关系的历史沿革[J].中医杂志,2018,59(12):1002-1005,1010.
- [11] 余轶耕.电针通过调控肝脏 SIRT1/ATG7 改善胰岛素抵抗的机制研究[D].武汉:湖北中医药大学,2021.
- [12] 刘新燕,赵慧玲.针灸干预代谢综合征的研究概况[J].中国针灸,2015,35(S1):129-131.
- [13] 王静芝,张晓明,柳梅华,等.电针对胰岛素抵抗大鼠认知功能与下丘脑 PI3K、Akt2 蛋白表达的影响[J].辽宁中医杂志,2019,46(1):164-168.

- [14] 宋爱群, 张阳普, 姚敏, 等. “标本配穴”电针对胰岛素抵抗肥胖大鼠脑肠肽胆囊收缩素中枢敏感性的影响[J]. 中国针灸, 2020, 40(9):969-975.
- [15] 李云隆, 赵振群, 刘万林. 激素性股骨头缺血坏死中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对自噬的调控[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(12):1921-1929.
- [16] MACIEJCZYK M, ŻEBROWSKA E, CHABOWSKI A. Insulin resistance and oxidative stress in the brain: What's new?[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(4):874.
- [17] 全海燕, 江兴, 何璐. 线粒体自噬在肝胰岛素抵抗中作用机制的研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(2):198-204.
- [18] 杨好, 郭晋言, 杨春, 等. 针刺调控自噬改善阿尔茨海默病的研究进展[J]. 广东医学, 2021, 42(4):404-408.
- [19] 谷婷, 吴涛, 王瑞辉, 等. 电针对创伤性颅脑损伤大鼠损伤区皮层自噬相关蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(7):524-528, 547.
- [20] 姚俊鹏, 周思远, 鄢香芸, 等. 基于 mTOR/P70S6K 信号通路探讨电针对肥胖大鼠脂肪组织自噬的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(5):2633-2638.
- [21] HAO A, ZHENG H, ZHANG H, *et al*. Down-regulation of betatrophin enhances insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus through activation of the GSK-3 β /PGC-1 α signaling pathway[J]. *J Endocrinol Investigat*, 2021, 44(9):1-12.
- [22] 唐念珍, 唐成林, 杨辉, 等. 电针对胰岛素抵抗模型大鼠 GLUT4 和 GSK-3 β mRNA 表达的影响[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2014, 23(5):394-400.

收稿日期 2023-06-10

《上海针灸杂志》投稿须知

投稿要求

来稿应具有先进性、科学性和逻辑性, 论点明确, 资料可靠, 文字精炼, 层次清楚, 数据准确, 统计方法正确, 书写工整规范, 撰写格式符合本刊要求。来稿应注明无一稿两投、不涉及保密及署名无争议等事项。

稿件的要求与格式

- **题目**: 含义明确, 言简意赅, 并包含主要的关键词, 字数一般不超过 20 个字。英文题目一般不超过 120 个字母和空格, 尽量不用缩写。
- **摘要**: 300 字左右, 说明目的、方法、结果(包括主要数据)与结论。
- **主题词**: 每篇至少中英文各 5 个关键词, 尽量选用最新版《中国中医药学主题词表》和《Index Medicus》中 Mesh 所列的词。
- **基金资助**: 来稿若有课题资助, 请脚注于文题页下方, 需写明课题来源和编号。
- **引言**: 扼要论述研究的理论基础、前人已有工作、研究目的和意义。
- **材料和方法**: 写明研究对象。常规方法描述从简; 创新方法或有较大改进的方法则应详述, 以便他人重

复。已发表但人们不太了解的方法应引用文献, 简要描述。临床研究需标注伦理审批号。

- **研究设计**: 应交代研究设计的名称和主要做法。应围绕“重复、随机、对照、均衡”4 个基本原则作概要说明。
- **统计方法**: 应写明所用统计分析方法的具体名称和统计量的具体值。
- **结果**: 对原始资料作加工处理和必要的统计分析, 写明统计结果、观察例数、统计值和 *P* 值。对所得的结果用文字、图表作有逻辑性的描述。
- **表**: 需附于正文第 1 次提到它的文字段后面, 要有表格序号及标题, 表格中数量值小数点后保留位数需一致。
- **图**: 图像分辨率要求大于 220 dpi, 且格式为 jpg, 需在图的下方注明图序号、图题和图注, 图中涉及数量值的应标明数量值的计量单位。
- **参考文献**: 引用与文章直接有关的重要文献, 以近 5 年发表文献为主。论著类文章不少于 20 条, 综述类文章不少于 40 条。本刊一般不受理无参考文献的文章。参考文献著录标准参照《参考文献著录规则: GB/T 7714—2015》的编写格式。