文章编号:1005-0957(2024)09-1017-08

・动物实验・

电针风池穴对 MCAO/R 大鼠运动功能及运动皮层缺血周围灶 01 ig2 蛋白的影响

陈吕佳¹,张英杰²,郝铃钰¹,徐鸣曙²

(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 上海市针灸经络研究所, 上海 200030)

【摘要】 目的 探讨电针风池穴治疗脑缺血再灌注损伤的可能机制。方法 将40只雄性SPF级SD大鼠随机 分为空白组、空白电针组、模型组、模型电针组,每组10只。空白组不进行任何处理,空白电针组采用电针风池 穴治疗,模型组进行线栓法大脑中动脉闭塞/再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R) 模型制备,模型电针组进行线栓法 MCAO/R 模型制备并采用电针风池穴治疗。4 组在电针前后均进行体质量测量、CatWalk 步态检测;电针治疗结束后进行 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride, TTC) 染色观察脑梗死情况,蛋白免疫印迹(Western blot, WB)、免疫荧光检测少突胶质细胞转录因子 2(oligodendrocyte transcription factor 2, 0lig2)蛋白表达。结果 与空白组比较,模型组大鼠脑梗死面积 显著增大(P<0.01),体质量显著下降(P<0.01),四肢摆动速度明显减慢(P<0.05),左前脚掌宽度明显减小(P<0.05),WB 及免疫荧光检测运动皮层区 0lig2表达减少(P<0.05,P<0.01)。与模型组比较,模型电针组大鼠脑梗死面积明显减小(P<0.01),体质量增加(P<0.05),造模后 2~3 d大鼠四肢摆动速度增加(P<0.05),造模后 3~4 d大鼠左前脚掌宽度增大(P<0.05),WB 及免疫荧光检测运动皮层区域缺血周围灶 0lig2 表达增加(P<0.01)。 结论 电针风池穴可上调再灌注后大鼠运动皮层区域缺血周围灶 0lig2 蛋白的表达,减小再灌注后大鼠脑组织 梗死面积,促进运动皮层的修复,加速患肢平衡与稳定性的恢复。

【关键词】 针刺疗法;电针;脑缺血;再灌注损伤;运动功能;少突胶质细胞转录因子2;卒中;大鼠;穴,风池

【中图分类号】 R2-03 【文献标志码】 A

DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2024.09.1017

Effects of electroacupuncture at Fengchi (GB20) on motor function and Olig2 protein around motor cortex ischemic lesion in MCAO/R rats CHEN Lüjia¹, ZHANG Yingjie², HAO Lingyu¹, XU Mingshu². 1.Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2.Shanghai Research Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai 200030, China

[Abstract] Objective To discuss the plausible mechanism of electroacupuncture at Fengchi (GB20) in treating cerebral ischemia-reperfusion injury. **Method** Forty male SPF-grade Sprague-Dawley (SD) rats were randomized into a blank control group, a blank electroacupuncture group, a model group, and a model electroacupuncture group, with 10 rats in each group. The blank control group received no intervention, the blank electroacupuncture group received electroacupuncture at Fengchi, the model group underwent model preparation with middle cerebral artery occlusion/ reperfusion (MCAO/R), and the model electroacupuncture group received MCAO model preparation and electroacupuncture at Fengchi. The four groups of rats were weighed and observed with CatWalk gait detection before

基金项目:上海市卫生健康委员会科研项目(2020LQ020);上海市科学技术委员会科研计划项目(17ZR1427500);上海市人才发展基金项目(2017094)

作者简介:陈吕佳(1995一), 女, 2020级硕士生, Email:13476841796@163.com

通信作者:徐鸣曙(1978一),男,副研究员,Email:mingshuxu@163.com

and after the electroacupuncture intervention; after the electroacupuncture intervention, cerebral infarction was observed using staining with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC), and the protein expression of oligodendrocyte transcription factor 2 (Olig2) was detected using Western blot (WB) and immunofluorescence. **Result** Compared with the blank control group, the model group rats had significantly larger cerebral infarction areas (P < 0.01), lower body masses (P < 0.01), slower limb swing speeds (P < 0.05), smaller left forepaw widths (P < 0.05), and lower expression of Olig2 in the motor cortex according to the WB and immunofluorescence results (P < 0.05, P < 0.01). Compared with the model group, the model electroacupuncture group had significantly smaller cerebral infarction areas (P < 0.01), larger body masses (P < 0.05), faster limb swing speeds 2-3 d after modeling (P < 0.05), larger left forepaw widths 3-4 d after modeling (P < 0.05), and higher expression of Olig2 around the ischemia lesion in the motor cortex according to the WB and immunofluorescence results (P < 0.05), larger left forepaw widths 3-4 d after modeling (P < 0.05), and higher expression of Olig2 around the ischemia lesion in the motor cortex according to the WB and immunofluorescence results (P < 0.05) can upregulate the expression of Olig2 protein around the ischemia lesion in the motor cortex, reduce the cerebral infarction area, boost the recovery of motor cortex, and accelerate the recovery of the affected limb's balance and stability in rats after reperfusion.

[Key words] Acupuncture therapy; Electroacupuncture; Cerebral ischemia; Reperfusion injury; Motor function; Oligodendrocyte transcription factor 2; Stroke; Rats; Acupiont, Fengchi (GB20)

卒中是由脑血管引起的急性局灶性中枢神经系统的损伤,其中缺血性卒中占卒中总发病率的 80%^[1],卒中后缺血缺氧导致神经元坏死、脑网络结构受损,1/2的患者会出现运动功能障碍^[2]。初级运动皮层(primary motor cortex, M1)区,属于大脑中动脉供血区域,在运动控制过程中起关键作用,主要对运动信息进行加工、处理,激活肌肉,负责控制肢体随意运动^[3]。刺激运动皮层区域,有助于卒中后运动功能的恢复^[4]。少突胶质细胞(oligodendrocyte, OLG),为中枢神经的成髓鞘神经胶质细胞^[5],能显著加快信号传导速度,还对轴索及神经元的功能维持及存活起着至关重要的作用^[6]。大脑局部缺血后,轴突丧失完整性,导致严重的神经功能缺损^[7]。在缺血缺氧等损伤条件下,胶质细胞参与缺血后的损伤修复^[8]。

电针治疗是改善卒中后运动功能障碍的主要康复 治疗技术之一,电针治疗的主要机制之一是促进神经 调节。本研究观察电针风池穴对大脑中动脉闭塞/再灌 注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)大鼠模型运动皮层缺血周围灶少突胶质细胞 转录因子 2(oligodendrocyte transcription factor 2, 0lig2)蛋白的影响,并结合 Catwalk 步态系统进行 检测,以期进一步阐述电针治疗脑缺血再灌注损伤的 可能机制,为后续的实验研究和临床应用提供科学依 据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 Sprague Dawley(SD)大鼠 40 只,8~ 10周龄,体质量180~200 g,购买于北京维通利华实验 动物技术有限公司,饲养于上海中医药大学附属岳阳 中西医结合医院动物实验中心,实验动物许可证号 [SYXK(沪)2020-0009]。实验室饲养条件为光照:黑 暗=12 h:12 h,室温(25±1)℃,湿度55%~65%。动物 在饲养及实验过程中自由进食,饮用灭菌水,无异常后 开始实验。本实验方案通过上海中医药大学附属岳阳 中西医结合医院伦理委员会审查(YYLAC-2019-004)。

1.2 主要仪器与试剂

Catwalk 步态分析系统(CatWalk XT,北京诺达思 信息技术有限责任公司);电针治疗仪(G6805-2A,上海 华谊医用仪器厂);针灸针(华佗牌,CEA10-2-1,苏州医 疗用品厂有限公司);化学发光成像仪(Amersham Imager 600,美国通用电气公司);冰冻切片机(CM1950, 德国徕卡公司);光学显微镜(BX53,奥林巴斯中国有限 公司)。

0.36 mm MCAO 栓线(2636A4,北京西浓科技有限公司);2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride, TTC)(T8170,中国北京索莱宝 科技有限公司);异氟烷(R510-22,瑞沃德生命科技有 限公司);01ig2 抗体(MABN50,Sigma);β-actin 抗体 (4970S, Cell Signaling);HRP 标记的抗鼠抗体(7076,

上海针灸杂志 2024 年 9 月第 43 卷第 9 期

Cell Signaling);HRP 标记的抗兔抗体(7074,Cell Signaling);抗鼠 IgG H&L 染料(4409,Cell Signaling);抗荧光淬灭封片剂(含 DAPI)(P0013,中国碧云天生物科技有限公司)。

1.3 分组及造模方法

利用 SPSS25.0 软件生成随机数字,将40 只 SD 大 鼠随机分为空白组、空白电针组、模型组和模型电针 组,每组 10 只。采用改良 Zea Longa 线栓法^[9]制备 MCAO/R 模型,异氟烷诱导大鼠进入麻醉状态,仰卧位 固定,钝性分离暴露右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA)、颈外动脉(external carotid artery, ECA), 分别夹闭 ICC、CCA,将栓线由 ECA 近心端,缓慢推至"Y" 型交叉口大脑中动脉处,插入深度为 16.5~18.0 mm, 缝合颈部肌肉与皮肤,90 min 后将栓线全部拔出,逐层 缝合伤口。详见图 1。



图 1 MCA0/R 大鼠模型示意图

1.4 干预方法

空白组大鼠进行置高处理;空白电针组大鼠造模 当日开始电针风池穴干预;模型组制备 MCAO/R 模型后 进行置高处理;模型电针组制备 MCAO/R 模型,再灌注 结束后立刻进行电针风池穴干预。电针具体操作为, 采用 0.25 mm×13 mm 针灸针朝向内直刺风池穴(定位 为颈部枕骨隆突下缘与胸锁乳突肌之间的凹陷中),深 度约 6 mm^[10]。针刺后接电针治疗仪,采用连续波,频率 为 2 Hz,电流为 3~5 mA,以大鼠两耳郭轻抖为度,共治 疗 30 min。每日 1 次,连续治疗 5 d。

1.5 观察指标

造模前对各组动物进行步态基线、体质量基线采 集,造模后 2~5 d 采集步态、体质量。干预结束后, 每组随机选取 4 只大鼠,4%浓度的异氟烷深度麻醉约 4 min, 手术剪断头, 止血钳剥离颅骨, 取出完整大脑做 TTC 染色鉴定缺血面积及范围。模型组与模型电针组 剩余大鼠 4%异氟烷深度麻醉约 4 min, 断头后止血钳剥 离颅骨, 取出完整大脑, TTC 溶液轻度染色, 保留第 2 片 脑片运动皮层缺血周围灶做免疫荧光实验, 4%多聚甲 醛 24 h 后蔗糖梯度脱水; 保留第 3 片脑片运动皮层缺 血周围灶进行蛋白免疫印迹(Western blot, WB), 液氮 保存。空白组与空白电针组大鼠在相同脑片组织部位 分别进行免疫荧光、WB 实验。

1.5.1 Catwalk 步态采集

各组在造模前进行步态基线采集,造模后 2~5 d 进行步态采集。大鼠在8 s内无明显停顿、无折返顺 利通过跑道,为完成 1 次测试。每只大鼠需成功采集 3次^[10],然后使用 Catwalk XT 10.6 软件分析大鼠步态 进行分析。

1.5.2 脑梗死面积

各组干预完成后,4%异氟烷深度麻醉约 3 min,至 大鼠无反应;手术剪分离头骨,暴露完整大脑,将大脑 倒出到玻璃培养皿上,轻柔流水冲洗血水,滤纸吸干表 面水分,-80 ℃冷冻 10 min;将脑组织进行切片(厚度 约 2 mm,冠状位),从前至后 5 片(见图 2);将新鲜组织 切片放到装有 TTC 染色液的染色容器内,37 ℃避光孵 育 5 min。观察染色结果,非梗死区为红色,梗死区为 白色。用手机在同样光照条件下进行图像采集,用 Image J 1.51 软件计算脑梗死面积并进行分析。



注:由 BioRender 制作。 图 2 切片示意图

1.5.3 WB 检测 01ig2 蛋白表达

按照组织:RIPA 裂解液:PMSF 蛋白酶抑制剂:蛋白 酶抑制剂=0.1 g:1 000 µL:10 µL:20 µL 的比例,在 4 ℃冰箱中静置 30 min 后于组织均质器进行匀浆处理, 将研磨好的组织放置于 4 ℃离心机中,参数设置为转 速 12 000 rpm、时间 5 min 进行离心,抽取上清液,用 于蛋白分析。用 BCA 工作液进行蛋白浓度测定。采用 WB 法,将上样量为 95.55 ng 的样品 100 ℃加热 5 min, 电泳分离蛋白,快速湿转仪转膜,5%BSA 封闭,加入一 抗01ig2(1:2 000),4 ℃冰箱孵育过夜。TBST 溶液洗 膜4次,每次5min,将膜放入二抗,室温孵育1h,再次 洗膜4次,每次5min;显影试剂均匀淋洗 PVDF 膜,置 于成像仪曝光;将曝光好的照片导入Image J1.51软件 进行条带灰度值分析。

1.5.4 免疫荧光法检测 01ig2 蛋白表达

蔗糖梯度脱水后包埋切片,将玻片置于 PBS 中漂 洗3次,每次5min;TritonX-100室温通透20min,5% BSA室温封闭1h;加入一抗01ig2(1:200),在湿盒中 4℃孵育过夜。PBS洗3次,每次10min,避光加入荧 光标记的二抗,37℃孵育1h,PBS洗3次,每次10min, 滴加含DAPI的防荧光淬灭剂之后用指甲油进行封片, 观察结果并拍照,将照片导入ImageJ1.51软件进行荧 光强度分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS25.0 软件进行数据分析统计。符合正态 分布及方差齐性的计量资料以均数±标准差表示,若

Shanghai J Acu-mox, Sep 2024, Vol 43, No 9

方差齐比较用单因素方差分析,两两比较选择 LSD 法; 不齐比较采用 Dunnett 法。各组不同时间点前后比较 用重复测量方差分析,满足球形检验采用一元方差分 析,不满足球形检验则采用 Greenhouse-Geisser 校正 结果。以 P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 4组大鼠梗死面积比较

由表 1 和图 3 可见, 与空白组比较, 模型组梗死面积明显增大 (P<0.01); 与模型组比较, 模型电针组梗死面积显著减小 (P<0.01)。

表1 4组大鼠梗死面积比较 $(\bar{x} \pm s)$ 单位:mm²

组别	n	梗死面积
空白组	4	0.00 ± 0.00
模型组	4	0.26 ± 0.03^{1}
模型电针组	4	0.12 ± 0.02^{2}
空白电针组	4	0.00 ± 0.00

注:与空白组比较¹⁾P<0.01;与模型组比较²⁾P<0.01。



注:A为空白组;B为模型组;C为模型电针组;D为空白电针组。

图 3 4 组大鼠 TTC 染色图

2.2 4组大鼠体质量比较

由表 2 可见,4 组大鼠造模前体质量比较,差异均 无统计学差异(P>0.05)。模型组与模型电针组造模后

1~4 d 体质量均明显下降,与空白组比较,差异均有统
计学意义(P<0.05)。模型电针组造模后 1~4 d 体质
量与模型组比较,差异均有统计学意义(P<0.05)。

表2 4组大鼠体质量比较 ($\overline{x} \pm s$) 单位:g							
组别	n	造模前	造模后1 d	造模后2 d	造模后 3 d	造模后4 d	
空白组	10	265.80 ± 10.51	277.80 ± 6.20	267.90 ± 14.71	287.60 ± 3.92	301.70 ± 9.19	
模型组	10	263.90 ± 6.14	229.70 \pm 10.41 ¹⁾	210. 20 \pm 18. 54 ¹⁾	205. 20 \pm 21. 60 ¹⁾	206. 00 ± 32.03^{10}	
模型电针组	10	263.80 ± 5.61	241.60 \pm 17.10 ¹⁾²⁾	239.60 \pm 27.76 ¹⁾²⁾	236. 40 \pm 33. 31 ¹⁾²⁾	241.80 \pm 35.94 ¹⁾²⁾	
空白电针组	10	271.80 ± 11.21	274.50 \pm 10.41	279.10 \pm 10.28	284.20 \pm 11.02	293.00 \pm 15.71	

注:与空白组比较¹⁾P<0.05;与模型组比较²⁾P<0.05。

2.3 4 组大鼠 Catwalk 步态实验结果

2.3.1 各组大鼠四肢摆动速度实验结果比较

由表 3~6 可见,4 组大鼠造模前四肢摆动速度比 较,差异均无统计学意义(P>0.05)。模型组造模后 1~4 d 四肢摆动速度均较空白组明显减慢,差异均有 统计学意义(P<0.01)。模型电针组造模后 2~3 d 四 肢摆动速度均较模型组明显加快,差异均有统计学意 义(P<0.05)。

表3 4组大鼠Catwalk步态实验左前肢摆动速度比较 $(\overline{x}\pm s)$								单位:mm・s⁻¹	
组别	п	造模前	造模后1 d		造模后2 d		造模后3 d		造模后4 d
空白组	10	1 273.73 \pm 100.54	1 287.98 \pm 193.94	1	269.87±89.03	1	271.26 ± 200.99	1	253.13 ± 117.98
模型组	10	1 286.16±221.49	683. 42 \pm 401. 31 ¹⁾		378.93 ± 420.74^{10}		338.09 \pm 385.97 ¹⁾		713. $04 \pm 313. 40^{10}$
模型电针组	10	1 345.69±140.49	629. 51 ± 579.00^{10}		776. 89 ± 490.70^{2}		880. 29 \pm 475. 01 ²⁾		927.48±342.16
空白电针组	10	1 442. 47 \pm 127. 34	1 450. 63 ± 186.79	1	424.85 \pm 171.98	1	385.02 ± 246.15	1	303.37±210.19
注:与空白组比较 ¹⁾ P<0.01;与模型组比较 ²⁾ P<0.05。									

表4 4组大鼠Catwalk步态实验左后肢摆动速度比较($\overline{x} \pm s$)						单位:mm・s⁻¹
组别	n	造模前	造模后1 d	造模后2 d	造模后3 d	造模后4 d
空白组	10	1 397.67 \pm 116.47	1 484.26 \pm 187.10	1 445.45 \pm 137.12	1 441.78 \pm 125.86	1 396.19±118.13
模型组	10	1 529. 11 \pm 232. 93	755. 29 \pm 408. 97 ¹⁾	511.90 \pm 562.44 ¹⁾	408.03 ± 438.43^{10}	867. 62 \pm 392. 00 ¹⁾
模型电针组	10	1 528. 19 \pm 170. 69	776. $48 \pm 643. 26^{10}$	887. 28 ± 534.25^{2}	1 051.15 \pm 522.91 ²⁾	1 100.15 \pm 343.74
空白电针组	10	1 629.63 \pm 131.02	1 691.88 \pm 199.13	1 619.35 \pm 191.04	1 602.95 \pm 256.20	1 556.93 \pm 212.26

注:与空白组比较¹⁾P<0.01;与模型组比较²⁾P<0.05。

表5 4组大鼠Catwalk步态实验右前肢摆动速度比较(\overline{x} ± s)						单位:mm・s ⁻¹
组别	n	造模前	造模后1 d	造模后2 d	造模后3 d	造模后4 d
空白组	10	1 256.63 \pm 148.52	1 298.80±186.19	1 285.04 \pm 75.36 1	334.39 \pm 245.41	1 243.69±80.09
模型组	10	$1\ 278.00\pm207.85$	586. 27 \pm 353. 88 ¹⁾	355. 57 \pm 391. 39 ¹⁾	348.39 \pm 395.54 ¹⁾	743. 47 \pm 337. 53 ¹⁾
模型电针组	10	1 350.99 \pm 197.44	581.01 \pm 561.09 ¹⁾	731. 61 ± 518.85^{2}	876. 39 \pm 474. 18 ²⁾	947.56 \pm 299.61
空白电针组	10	1 421.49 \pm 131.24	1 374.70 \pm 152.19	1 391.51 \pm 194.64 1	358.78 \pm 206.03	1 290.34 \pm 218.81
			-			

注:与空白组比较¹⁾P<0.01;与模型组比较²⁾P<0.05。

表6 4组大鼠Catwalk步态实验右后肢摆动速度比较($\overline{x} \pm s$)

单位:mm・s⁻¹

组别	n	造模前	造模后1 d	造模后2 d	造模后3 d	造模后4 d
空白组	10	1 458.49 \pm 74.52	1 496.38 \pm 207.43	1 464.51 \pm 72.06	1 475.67 \pm 132.64	1 465.37 \pm 117.45
模型组	10	1 482.02 \pm 193.96	707. 60 ± 389.08^{10}	483. 73 \pm 523. 39 ¹⁾	366. 38 \pm 403. 14 ¹⁾	823. 08 ± 373.75^{10}
模型电针组	10	1 511.99 \pm 195.19	758. 50 \pm 624. 59 ¹⁾	880. $61 \pm 520. 30^{20}$	932. 13 \pm 543. 33 ²⁾	1 033.97 \pm 323.64
空白电针组	10	1 595.28 \pm 144.26	1 580.73 \pm 161.97	1 576.58 \pm 238.24	1 524.40 \pm 235.56	1 493.59 \pm 243.79

注:与空白组比较¹⁾P<0.01;与模型组比较²⁾P<0.05。

2.3.2 4组大鼠左前爪印宽度结果比较

表7 4组大鼠Catwalk步态实验左前肢爪印宽度比较($\overline{x} \pm s$) 单位:mm						
组别	n	造模前	造模后1 d	造模后2 d	造模后3 d	造模后4 d
空白组	10	19.78 ± 1.62	20.95 ± 1.05	21.1 ± 1.31	21.65 \pm 1.52	22.03 ± 1.07
模型组	10	19.97 ± 1.09	15. 19 ± 8.53^{1}	9.39 \pm 10.02 ¹⁾	10.06 \pm 10.89 ¹⁾	17.70 \pm 6.66 ¹⁾
模型电针组	10	20. $61 \pm 2. 21$	12.83 \pm 9.10 ¹⁾	15.22 ± 8.65	18.64 \pm 7.75 ²⁾	21. 28 \pm 2. 49 ²⁾
空白电针组	10	21.32 ± 1.64	20.57 \pm 1.75	22.11 \pm 1.53	20.73 \pm 2.48	22.47 \pm 1.47

注:与空白组比较¹⁾P<0.05;与模型组比较²⁾P<0.05。

• 1021 •

• 1022 •

由表 7 可见,4 组大鼠左前爪印宽度比较,差异均 无统计学意义(P>0.05)。造模后,模型组大鼠左前爪 印宽度呈明显下降趋势,模型电针组则呈增长趋势。模 型组造模后1~4 d左前爪印宽度均较空白组明显缩短 (P<0.05)。模型电针组造模后3~4 d左前爪印宽度 均较模型组明显增加(P<0.05)。

2.4 4组大鼠皮层缺血周围灶脑组织01ig2蛋白表达

由表 8、图 4 可见, 与空白组比较, 模型组大鼠 01ig2 表达减少 (P<0.05); 与模型组比较, 模型电针 组大鼠 01ig2 表达显著增加(P<0.01)。

表 8 4 组大鼠 0 l i g2 蛋白相对表达量比较 ($\overline{x} \pm s$)

组别	n	01ig2
空白组	3	1.00 ± 0.23
模型组	3	0. 45 ± 0.20^{10}
模型电针组	3	1.25 ± 0.24^{2}
空白电针组	3	0.93 ± 0.21

注:与空白组比较¹⁾P<0.05;与模型组比较²⁾P<0.01。









图 4 4 组大鼠皮层缺血周围灶 01 ig2 蛋白表达电泳图 2.5 4 组大鼠 01 ig2 平均荧光强度

由表 9、图 5 可见,与空白组比较,模型组大鼠 01ig2 表达显著减少(P<0.01);与模型组比较,模型 电针组大鼠 01ig2 表达显著增加(P<0.01)。

表9 4组大鼠 01 ig2 平均荧光强度比较 ($\overline{x} \pm s$)

组别	n	Olig2
空白组	3	95.30 \pm 16.83
模型组	3	50. 37 ± 5.68^{1}
模型电针组	3	138.94 \pm 10.84 ²⁾
空白电针组	3	109.09 ± 16.38

注:与空白组比较¹⁾P<0.01;与模型组比较²⁾P<0.01。





注:A 为空白组;B 为模型组;C 为模型电针组;D 为空白电针组。 图 5 4 组少突胶质及标志物 01 ig2 表达(×200)

3 讨论

本实验参照改良 Zea Longa 线栓法建立 MCAO/R 大鼠模型,并采用 TTC 染色进行模型验证, Catwalk 步 态系统评判大鼠运动能力。结果表明,造模前 4 组大鼠 四肢摆动速度与左前掌印宽度无统计学意义,造模后 模型组与模型电针组大鼠摆动速度明显下降,左前掌 印宽度明显减小,与空白组比较,差异均具有统计学意 义,提示成功制备的 MCAO/R 大鼠伴随有运动功能障碍, 且干预前 4 组大鼠运动能力基本一致。电针风池治疗 5 d 后,采用 TTC 染色观察 MCAO/R 大鼠脑梗死情况,结 果显示模型组与空白组脑梗死面积存在显著差异;电 针风池治疗后,电针组大鼠脑梗死面积较模型组显著 减小,提示电针风池穴在脑缺血再灌注后能发挥脑保 护效应。摆动速度指摆动时大鼠四肢的运动速度,与整 体运动协调性密切相关。当大鼠大脑运动皮层受损, 患侧摆动速度受不同程度影响,健侧肢体也会因代偿 而发生相应变化^[10]。正常情况下,大鼠倾向于用后肢支 撑身体质量量,前肢较多涉及灵活性、协调性等精细动 作,而 MCAO 模型的大鼠由于大脑中动脉供血区域组织 损伤,患肢无力、蜷缩,健侧肢体代偿发力^[11],结合本课 题组常用造模方法,脑缺血后右侧运动皮层损伤影响 左侧(患肢),故步态协调性改变在前肢表现更为显著。 采用 Catwalk 步态系统观察干预后大鼠的运动能力^[12], 结果显示,模型组大鼠较空白组左肢摆动速度下降,左 前掌印宽度明显减小;模型电针组大鼠较模型组左肢 摆动速度增加,左前掌印宽度明显增大,提示电针风池 能改善患肢蜷缩情况,加快患肢平衡性与稳定性的恢 复。

脑缺血疾病属于中医学"中风"范畴,本病是以肝 肾阴虚为本,风火互扰、痰瘀阻络为标的本虚标实之 症。研究者对古文献中记载的治疗中风穴位进行研究, 发现风池的出现频次较高^[13]。相关临床报道^[14-15]显示,

上海针灸杂志 2024 年 9 月第 43 卷第 9 期

电针能明显改善卒中患者的运动功能,提高其生存质量。有动物实验^[16-17]表明,电针风池可以有效改善局灶 性脑缺血大鼠的神经功能损伤,促进神经可塑性,使脑 缺血后神经活动和运动功能得以恢复,这与本实验的 结果相一致。

电针风池改善卒中后运动障碍的具体机制尚不明 确。少突胶质细胞在神经元受到损伤时被迅速激活, 皮层区域的少突胶质细胞在缺血的情况下具有高度敏 感性[18]。脑组织缺血后,数分钟至数小时内,少突胶质 细胞数量和髓鞘密度减少^[19]。缺血后的少突胶质细胞 减少,髓鞘脱失,影响轴突的跳跃传导,导致传导速度 减慢甚至无法传导^[20],影响神经兴奋性和突触传递。 01ig2 与少突胶质细胞分化有关,少突胶质细胞前体 细胞(Oligdendrocyte precursor cells, OPCs)分化 为少突胶质细胞的过程需要 01ig2 参与^[21]。有研究^[22] 表明,01ig2 过表达可以诱导神经干细胞分化成成熟 的少突胶质细胞,注射 01ig2-NSCs (NSC-derived OPCs) 可以减轻复发-缓解型实验性自身免疫性脑脊髓炎小 鼠的神经功能缺损症状^[23]。电针可以促进少突胶质细 胞增殖, 缩短髓鞘完成恢复所用时间^[24], 可能通过减轻 少突胶质细胞结构性损伤及促进少突胶质细胞表达[25], 发挥胶质细胞对神经元的保护效应^[26]。本研究对运动 皮层缺血周围灶区域 01ig2 表达情况进行检测, WB 和 免疫荧光结果显示,模型组大鼠 01ig2 蛋白表达较空 白组减少。电针风池后,模型电针组大鼠 01ig2 蛋白表 达较模型组增多。故笔者推断电针风池可能通过上调 01ig2 蛋白表达以促进少突胶质细胞增殖。上述结果 表明,电针风池能上调 MCAO/R 大鼠运动缺血周围灶区 域 01ig2 蛋白表达, 促进少突胶质细胞增殖。

通过以上结果和分析,笔者认为电针风池改善缺 血再灌注大鼠的运动能力,其机制可能与上调 01ig2 蛋白表达而促进少突胶质细胞增殖有关。但本实验亦 存在不足之处,如未能对少突胶质细胞的髓鞘脱落与 生长的具体过程进行详尽阐释,也未补充髓鞘变化的 相关染色指标进一步验证本实验结果,这一问题会在 以后的研究中进行完善。总体而言,本研究的创新点在 于结果表明了 MCAO/R 后采用风池治疗是改善运动功 能的可行策略,其机制可能是促进少突胶质细胞增殖 与髓鞘修复,这些发现为改善卒中后管理和预后提供 了可靠的依据。

参考文献

- HERPICH F, RINCON F. Management of acute ischemic stroke[J]. Crit Care Med, 2020 (11):1654–1663.
- [2] GITTLER M, DAVIS A M. Guidelines for adult stroke rehabilitation and recovery[J]. JAMA, 2018(8):820– 821.
- [3] VIGNESWARAN G, PHILIPP R, LEMON R N, et al. M1 Corticospinal mirror neurons and their role in movement suppression during action observation[J]. *Curr Biol*, 2013(3):236–243.
- [4] DIMYAN M A, COHEN L G. Neuroplasticity in the context of motor rehabilitation after stroke[J]. Nat Rev Neurol, 2011(2):76–85.
- [5] 姚忠祥,胡波.少突胶质细胞及髓鞘形成参与学习记忆 功能的研究进展[J].第三军医大学学报,2020(9): 887-890.
- [6] SAAB A S, TZVETANOVA I D, NAVE K A. The role of myelin and oligodendrocytes in axonal energy metabolism[J]. Curr Opin Neurobiol, 2013 (6):1065–1072.
- [7] PATEL R A G, MCMULLEN P W. Neuroprotection in the treatment of acute ischemic stroke[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2017 (6):542–548.
- [8] 宁文华,李礼,郭扬,等.星形胶质细胞与缺血性脑卒中的关系及针刺干预研究进展[J].针刺研究,2019(10): 777-780.
- [9] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989 (1):84–91.
- [10] 张荻,张英杰,徐鸣曙,等.基于 Catwalk 步态分析评价 电针对大脑中动脉闭塞大鼠的效应机制[J].上海针灸 杂志,2020(12):1613-1622.
- [11] 胡美. 大鼠前肢主要运动肌在 M1 区的表达区研究[D]. 杭州:浙江大学, 2013.
- [12] ORGAH J O, REN J, LIU X, et al. Danhong injection facilitates recovery of post-stroke motion deficit via Parkin-enhanced mitochondrial function[J]. Restor Neurol Neurosci, 2019 (4):375–395.
- [13] 李晓林,万红棉.近 10 年风池穴临床应用进展[J].辽 宁中医药大学学报,2021(1):147-150.
- [14] 孙光华,周君,周桂娟,等.580 例脑卒中运动障碍患者 针刺配合物理治疗的回顾性研究[J].辽宁中医杂志,

• 1024 •

2019(10):2039-2042.

- [15] 李孟汉,鲁海,杜元灏,等.针刀结合醒脑开窍针刺法治 疗脑梗死恢复期感觉障碍:随机对照研究[J].中国针 灸,2021(1):9-12.
- [16] XU M S, ZHANG S J, ZHAO D,, et al. Electroacupuncture-induced neuroprotection against cerebral ischemia in rats: role of the dopamine D2 receptor[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013:137631.
- [17] WU J, LIN B, LIU W, et al. Roles of electro-acupuncture in glucose metabolism as assessed by 18F-FDG/PET imaging and AMPKα phosphorylation in rats with ischemic stroke[J]. Int J Mol Med, 2017 (3):875-882.
- [18] DIMOU L, SIMONS M. Diversity of oligodendrocytes and their progenitors[J]. Curr Opin Neurobiol, 2017 (47): 73-79.
- [19] MA Y, WANG J, WANG Y, et al. The biphasic function of microglia in ischemic stroke[J]. Prog Neurobiol, 2017 (157) : 247–272.
- [20] 陈应柱,包仕尧,田野.少突胶质细胞与缺血性脑损伤[J].国外医学(脑血管疾病分册),2005(5):367-370.

Shanghai J Acu-mox, Sep 2024, Vol 43, No 9

- [21] WEGENER A, DEBOUX C, BACHELIN C, et al. Gain of Olig2 function in oligodendrocyte progenitors promotes remyelination[J]. Brain, 2015 (Pt 1):120-135.
- [22] COPRAY S, BALASUBRAMANIYAN V, LEVENGA J, et al. Olig2 overexpression induces the in vitro differentiation of neural stem cells into mature oligodendrocytes[J]. Stem Cells, 2006 (4):23.
- [23] SHER F, AMOR S, GERRITSEN W, et al. Intraventricularly injected Olig2-NSCs attenuate established relapsing-remitting EAE in mice[J]. Cell Transplant, 2012 (9) :28.
- [24] 亢筝, 邹造峰, 孙婧娴, 等. 电针促进溶血卵磷脂诱导的 脱髓鞘小鼠髓鞘再生修复作用机制研究[J]. 针刺研究, 2019(1):1-7.
- [25] 张立,郭孝静,高叶萌,等.针康法对慢性低灌注大鼠学 习记忆能力及胼胝体内少突胶质细胞的影响[J].针灸 临床杂志,2021(6):63-68.
- [26] 罗燕,廖金玲,冯枫,等.电针对大鼠脑缺血灶周围区少 突胶质细胞超微结构及蛋白表达的影响[J].针刺研究, 2015(3):192-198.

收稿日期2024-03-06