

文章编号: 1005-0957 (2024) 10-1139-08

• 动物实验 •

针刺通过良性调控反应性星形胶质细胞极化改善后循环缺血性眩晕

文林月¹, 杨丽芳¹, 欧小燕¹, 柳刚²

(1. 安徽中医药大学研究生院, 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学第二附属医院, 合肥 230061)

【摘要】 目的 观察针刺对后循环缺血性眩晕 (posterior circulation ischemic vertigo, PCIV) 大鼠海马反应性星形胶质细胞极化的影响。**方法** 将 32 只清洁级雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、常规针刺组和颈椎横突尖针刺组, 每组 8 只。采取手术结扎右侧颈总动脉和锁骨下动脉的方法制备 PCIV 大鼠模型。常规针刺组针刺百会、双侧风池和内关, 颈椎横突尖针刺组取双侧 C₂、C₄、C₆ 颈椎横突尖, 假手术组和模型组仅予以抓取和固定, 不予针刺, 每日 1 次, 持续 14 d。治疗结束后使用激光多普勒血流仪检测大鼠前庭神经核 (vestibular nerve nucleus, VNN) 血流量, Western blot 测定大鼠海马反应性星形胶质细胞标志物胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP)、A1 星形胶质细胞标志物补体 C3d 和 A2 星形胶质细胞标志物 S100 钙结合蛋白 A10 (S100 calcium-binding protein A10, S100A10) 的表达水平, 并通过免疫荧光双重染色技术观察海马 A1、A2 星形胶质细胞的数量变化。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠 VNN 血流量减少 ($P < 0.01$), 平衡木测试评分升高 ($P < 0.01$), 海马 C3d 表达上升而 S100A10 下降 ($P < 0.01$), 大鼠海马 A1 星形胶质细胞数量增加而 A2 星形胶质细胞数量减少 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 两针刺组大鼠 VNN 血流量均增加 ($P < 0.01$), 平衡木得分均下降 ($P < 0.01$), 海马 C3d 表达下降而 S100A10 表达上升 ($P < 0.05$), A1 细胞均减少而 A2 细胞均增多 ($P < 0.01$)。与常规针刺组比较, 颈椎横突尖针刺组大鼠 VNN 血流量增加 ($P < 0.01$), 平衡木得分降低 ($P < 0.01$), C3d 下降而 S100A10 升高, A1 星形胶质细胞减少而 A2 星形胶质细胞增多, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 针刺可有效增加 PCIV 大鼠前庭供血, 抑制 A1 伤害性星形胶质细胞并上调 A2 保护性星形胶质细胞的表达, 针刺治疗 PCIV 的作用机制可能与良性调控反应性星形胶质细胞极化相关。

【关键词】 针刺疗法; 电针; 后循环缺血性眩晕; 星形胶质细胞极化; 大鼠**【中图分类号】** R2-03 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2024.13.4006

Acupuncture improves posterior circulation ischemic vertigo via positive regulation of reactive astrocyte polarization WEN Linyue¹, YANG Lifang¹, OU Xiaoyan¹, LIU Gang². 1. Graduate School, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230061, China

[Abstract] Objective To observe the effect of acupuncture on reactive astrocyte polarization in the hippocampus of rats with posterior circulation ischemic vertigo (PCIV). **Method** Thirty-two clean-grade male Sprague-Dawley (SD) rats were randomized into a sham operation group, a model group, a conventional acupuncture group, and a cervical transverse process tip acupuncture group, each consisting of 8 rats. The PCIV model was developed by surgical ligation

基金项目: 安徽省高校自然科学研究项目 (2023AH050760); 安徽省重大疑难疾病中西医协同攻关项目计划 [皖中医药发展秘 (2021) 70 号]

作者简介: 文林月 (1998—), 女, 2021 级硕士生, Email: wenlinyue@stu.ahtcm.edu.cn**通信作者:** 柳刚 (1976—), 男, 主任医师, 博士, Email: 442738117@qq.com

of the right common carotid artery and subclavian artery. The conventional acupuncture group was intervened by acupuncture at Baihui (GV20) and bilateral Fengchi (GB20) and Neiguan (PC6). The cervical transverse process tip acupuncture group received acupuncture at the cervical transverse process tips of C₂, C₄, and C₆. The Sham operation group and model group only underwent grasping and fixing. The interventions were all conducted once daily over 14 d. After the intervention, laser Doppler flowmetry was used to detect the blood flow in the rat's vestibular nerve nucleus (VNN); the Western blot (WB) assay was adopted to determine the expression levels of reactive astrocyte marker glial fibrillary acidic protein (GFAP), A1 astrocyte marker C3d, and A2 astrocyte marker S100 calcium binding protein A10 (S100A10) in the hippocampus of rats. Changes in the numbers of hippocampal A1 and A2 astrocytes were observed using immunofluorescence double staining. **Result** Compared to the sham operation group, the model group rats showed decreased VNN blood flow ($P<0.01$), an increased balance beam test score ($P<0.01$), elevated C3d expression and dropped S100A10 expression in the hippocampus ($P<0.01$), and a larger number of hippocampal A1 astrocytes and a smaller number of A2 astrocytes ($P<0.01$). Compared to the model group, rats in the two acupuncture groups presented elevated VNN blood flow ($P<0.01$), a decreased balance beam test score ($P<0.01$), lower C3d expression and higher S100A10 expression in the hippocampus ($P<0.05$), and a smaller number of A1 cells and a larger number of A2 cells ($P<0.01$). Compared to the conventional acupuncture group, rats in the cervical spinal process tip acupuncture group had elevated VNN blood flow ($P<0.01$), a decreased balance beam test score ($P<0.01$), lower C3d expression and higher S100A10 expression, and a smaller number of A1 cells and a larger number of A2 cells, while the latter had no statistical significance ($P>0.05$). **Conclusion** Acupuncture can raise vestibular blood flow, inhibit the expression of nociceptive A1 astrocytes, and enhance the expression of protective A2 astrocytes in PCIV rats. The mechanism of acupuncture treating PCIV may be associated with the positive control of reactive astrocyte polarization.

[Key words] Acupuncture therapy; Electroacupuncture; Posterior circulation ischemic vertigo; Astrocyte polarization; Rats

眩晕是临床上最常见的症状之一, 大约 20%~30% 的人都经历过这种症状, 眩晕在老年人中的发生率几乎是年轻人的三倍^[1]。后循环缺血性眩晕 (posterior circulation ischemic vertigo, PCIV) 是老年人群中常见的眩晕类型^[2-3], 其复发风险高, 且伴随或预示着一定的卒中风险, 尤其是在具备脑血管病危险因素的患者中^[4]。PCIV 的治疗除了改善眩晕症状外, 更重要的是阻止后循环缺血可能造成的进一步脑组织损伤。在脑缺血发生后, 多种细胞被激活, 触发一系列复杂的病理变化, 在这些环节中, 星形胶质细胞扮演着重要角色。星形胶质细胞是中枢神经系统中最常见的神经胶质细胞, 在保护血脑屏障、维持脑微环境稳态、调节突触传递等方面发挥着重要作用^[5]。后循环缺血发生后, 星形胶质细胞被诱导转化为 A1 伤害性星形胶质细胞和 A2 保护性星形胶质细胞^[6-7]。因此, 对星形胶质细胞表型分化的良性调控可能是治疗类似 PCIV 等缺血性脑血管病的重要靶点。

近年来的研究表明, 针刺治疗 PCIV 是安全而有效的^[8-11]。针刺还可以通过调控反应性星形胶质细胞的增殖、激活星形胶质细胞大麻素 1 受体等改善脑缺血损伤^[12-13]。另外, 在本课题组多年的医疗实践中, 颈椎横突尖针刺法对 PCIV 有良好的治疗作用^[14-16], 可有效改善患者的眩晕症状, 但具体机制尚未完全明确。因此, 这项研究通过观察针刺对大鼠海马反应性星形胶质细胞极化的影响, 进一步阐释针刺治疗 PCIV 潜在的生理机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

32 只清洁级雄性 SD 大鼠, 体质量 (200±20) g, 由郑州市惠济区华兴实验动物养殖场提供, 许可证号为 SCXK(豫)2019-0002。饲养温度维持在 20℃~25℃, 相对湿度 50%~60%, 明/暗周期 12 h/12 h, 自由饮食饮水。适应性饲养 7 d 后将大鼠随机分为假手术组、模

型组、常规针刺组和颈椎横突尖针刺组 4 组, 每组 8 只。本研究经安徽中医药大学动物实验伦理委员会审查后批准, 批准号为 AHUCM-rats-2022138, 所有的动物饲养和实验都严格按照实验动物的护理和使用指南进行。

1.2 主要试剂与仪器

胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 抗体 (sc-33673, 美国 Santa 公司); 补体 C3d 片段抗体 (bs-21990R, Bioss 北京博奥森生物技术有限公司); S100 钙结合蛋白 A10 (S100 calcium-binding protein A10, S100A10) 抗体 (bs-8503R, Bioss 北京博奥森生物技术有限公司); 小鼠 GAPDH 单抗 (TA-08, Zsbio 北京中杉金桥生物技术有限公司); 辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG (H+L) (亲和纯化) (ZB-2305, Zsbio 北京中杉金桥生物技术有限公司); 辣根酶标记山羊抗兔 IgG (H+L) (亲和纯化) (ZB-2301, Zsbio 北京中杉金桥生物技术有限公司); 预染蛋白 Marker (26616, Thermo 赛默飞世尔科技有限公司); ECL 超敏发光试剂盒 (34095, Thermo 赛默飞世尔科技有限公司)。激光多普勒血流仪 (PeriFlux 5000, 瑞典 Perimed AB 公司); 数字切片扫描仪 (Pannoramic MIDI 型, 匈牙利 3DHISTECH 公司); 电泳仪 (EPS300 型, 上海天能科技有限公司); 转膜仪 (VE-186 型, 上海天能科技有限公司); 恒温微量离心机 (LX 300 型, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司); 高速冷冻离心机 (JW-3021HR 型, 安徽嘉文仪器装备有限公司); 自动曝光仪 (JS-1070P 型, 上海培清科技有限公司); 0.25 mm×25 mm 一次性无菌针灸针 (中国苏州天协针灸器械有限公司)。

1.3 模型制备和筛选

参考刘阳等^[17]的方法建立模型。在吸入麻醉 (2.5% 异氟烷) 后, 仰卧位固定大鼠, 暴露并分离右侧颈总动脉 (common carotid artery, CCA) 和右侧锁骨下动脉 (subclavian artery, SCA), 穿线结扎。假手术组大鼠仅剥离右侧 CCA 及 SCA, 不结扎血管。在术中及术后大鼠麻醉待清醒时, 予以物理保温。造模后用激光多普勒血流仪检测大鼠前庭神经核 (vestibular nerve nucleus, VNN) 血流量以判断手术是否成功以及后循环的供血情况, 待大鼠清醒后进行平衡木实验以评估术后大鼠的平衡能力。大鼠 VNN 血流量下降率 20% 以上, 且行动欠稳、行走偏斜, 平衡木实验评分大于或等

于 1 分则视为造模成功^[17-18]。共制备 24 只, 成功 19 只, 按照随机原则补齐手术失败或死亡的大鼠。

1.4 针刺干预

造模 24 h 后, 清醒状态下, 采用物理方法将大鼠固定。参照大鼠解剖图谱^[19]和大鼠穴位定位方法^[20], 常规消毒后, 使用 0.25 mm×25 mm 的一次性无菌针灸针, 常规针刺组针刺双侧风池 (直刺 3 mm)、百会 (向前斜刺 2 mm) 和双侧内关 (直刺 5 mm), 颈椎横突尖针刺组针刺双侧 C₂、C₄、C₆ 颈椎横突尖 (直刺 4 mm)。连接电针仪, 两个针刺组各接两个输出, 双侧风池 (正极) 和内关 (负极), 双侧 C₂ 横突尖 (正极) 和 C₆ 横突尖 (负极), 同一输出的正负电极接在同侧, 参数设置为疏密波, 10 Hz/50 Hz, 30 min, 刺激强度以大鼠局部肌肉组织轻微跳动但不挣扎嘶叫为度。每日 1 次, 持续 14 d。假手术组及模型组在相应时间予以抓取和固定, 不予针刺治疗。

1.5 取材及样本处理

待所有大鼠完成前庭神经核血流量测定, 经吸入麻醉 (2.5% 异氟烷) 后迅速断头取脑, 于冰上迅速分离右侧海马组织。每组随机抽取 3 只大鼠右侧海马于 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋切片以进行免疫荧光染色。另每组随机抽取 3 只大鼠的右侧海马置于冻存管内, 保存于 -80 °C 冰箱以进行 Western blot 检测, 其余大鼠取右侧海马于 -80 °C 保存备用。

1.6 检测指标

1.6.1 前庭神经核组织血流量的测定

治疗结束后, 分别测定 4 组大鼠前庭神经核组织血流量。先分离大鼠右侧 CCA、SCA, 穿线备用, 然后将大鼠固定在三维脑立体定位仪上, 采用平颅头位, 定位大鼠右侧前庭神经核^[21], 使用激光多普勒血流仪, 待血流平稳后, 测定结扎前 VNN 血流量 (记录 30 s 的平均血流值), 随后结扎动脉, 待血流再次恢复平稳后, 测定结扎后 VNN 血流量 (记录 30 s 的平均血流值)。根据公式计算血流下降率, 血流下降率 = (结扎前血流量 - 结扎后血流量) / 结扎前血流量。假手术组大鼠除不结扎血管外, 其余操作均一致。

1.6.2 平衡木测试

平衡木长 80 cm, 宽 2.5 cm, 平放在距离地面高 10 cm 处。造模前 2 d 每天早晚各训练 1 次, 使大鼠能顺利地在平衡木上行走。造模 24 h 后正式进行实验, 观察时长为 60 s。评分标准^[22]为 60 s 内穿过平衡木

且不会脚滑计 0 分, 穿过平衡木且有小于 50% 的路程中出现脚滑现象计 1 分, 穿过平衡木但有大于 50% 的路程中出现脚滑现象计 2 分, 能穿过平衡木但患肢不能帮助向前移动计 3 分, 不能穿过平衡木但可坐在平衡木上面计 4 分, 将大鼠放在平衡木上会掉下来计 5 分; 评分越高表示大鼠的平衡能力越差。该测试由小组内对动物分组不知情的成员完成。

1.6.3 免疫荧光染色法检测 GFAP⁺C3d⁺、GFAP⁺S100A10⁺细胞计数

脑组织切片经脱蜡水化、抗原高压修复、0.5%TritonX-100 透膜后, 用山羊血清封闭, 滴加相应一抗, 稀释比鼠 GFAP(1:100)、兔 C3d(1:100)、兔 S100A10(1:100), GFAP/C3d、GFAP/S100A10 混匀后滴加于切片, 37 °C 培养箱孵育 60 min。PBST 冲洗 3 次, 滴加混匀的免疫荧光二抗(1:400), 37 °C 培养箱避光孵育 30 min。PBST 冲洗, 用抗荧光淬灭封片剂(含 DAPI)封片, 数字切片扫描仪扫描荧光切片。Image J 软件进行 GFAP⁺C3d⁺细胞、GFAP⁺S100A10⁺细胞计数。

1.6.4 Western blot 法检测 C3d、S100A10 表达量

取 100 mg 海马组织, 加入 RIPA 裂解液 600 μ L 进行裂解, 12 000 $\times g$ 离心 15 min, 收集上清, BCA 法进行蛋白定量。蛋白样品 1:4 加入上样缓冲液, 沸水浴加热 15 min。样品冷却到室温后上样到 SDS-PAGE 胶加样孔内, 每孔加 10 μ L, 恒压 80 V 电泳 1 h。转膜, 室温封闭(5%脱脂奶粉)2 h。加入一抗 4 °C 孵育过夜, 稀释比例为鼠 GAPDH(1:2 000)、兔 C3d(1:1 000)和兔 S100A10(1:1 500)。PBST 洗涤(10 min $\times$ 3 次), 加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗稀释液(1:20 000), 室温孵育 1.2 h, 洗涤后, 使用 ECL 发光试剂盒检测蛋白。Image J 软件对 ECL 的结果进行分析。

1.7 统计学方法

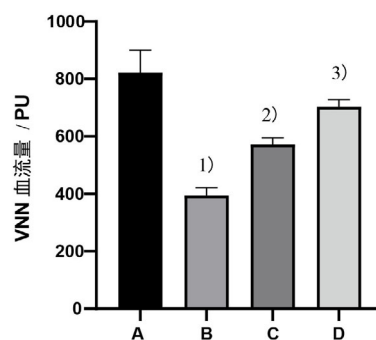
统计学分析采用 SPSS26.0 软件进行。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示, 组间比较采用单因素方差分析; 若方差齐, 多重比较用 LSD 检验; 若方差不齐, 则采用 Dunnett's T3。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组大鼠 VNN 血流量比较

与假手术组比较, 模型组大鼠 VNN 血流量明显减

少($P < 0.01$); 与模型组比较, 常规针刺组、颈椎横突尖针刺组大鼠 VNN 血流量均显著增加($P < 0.01$); 与常规针刺组比较, 颈椎横突尖针刺组提高脑血流量的幅度更明显($P < 0.01$)。详见图 1。

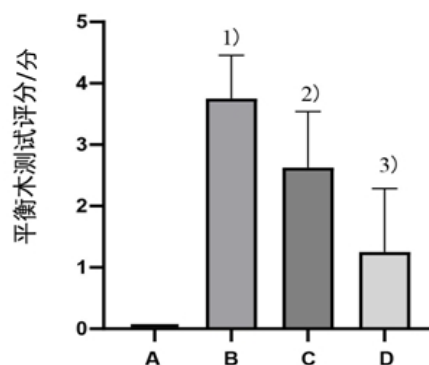


注: A 假手术组, B 模型组, C 常规针刺组, D 颈椎横突尖针刺组。与假手术组比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.01$; 与常规针刺组比较 ³⁾ $P < 0.01$ 。

图 1 4 组大鼠 VNN 血流量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

2.2 4 组大鼠平衡木测试评分比较

与假手术组比较, 模型组大鼠平衡木测试评分明显提高($P < 0.01$); 与模型组比较, 常规针刺组、颈椎横突尖针刺组大鼠平衡木得分均明显降低($P < 0.01$); 与常规针刺组比较, 颈椎横突尖针刺组大鼠平衡木得分更低($P < 0.01$)。平衡木测试评分越高, 大鼠的平衡能力和协调能力越差, 反之则越好, 以上结果提示针刺可以改善 PCIV 大鼠的平衡能力。详见图 2。



注: A 假手术组, B 模型组, C 常规针刺组, D 颈椎横突尖针刺组。与假手术组比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.01$; 与常规针刺组比较 ³⁾ $P < 0.01$ 。

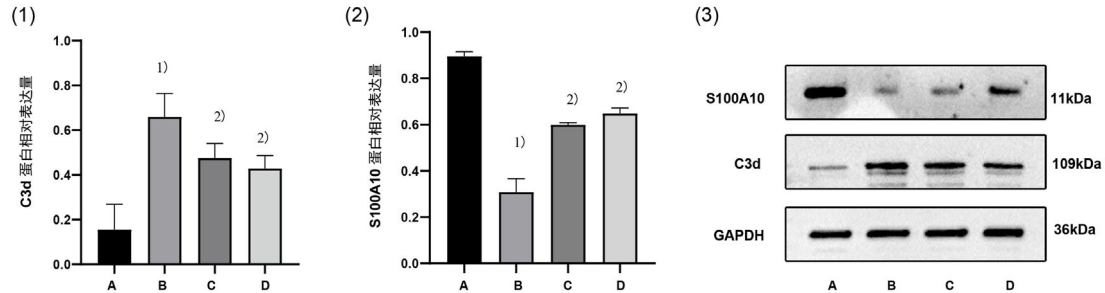
图 2 4 组大鼠平衡木测试评分比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

2.3 4 组大鼠海马 C3d 和 S100A10 表达量比较

与假手术组比较, 模型组大鼠海马中 A1 星形胶质细胞标志物 C3d 表达明显上升, A2 星形胶质细胞标志物 S100A10 表达明显下降($P < 0.01$); 与模型组比较,

两针刺组 C3d 的表达下降而 S100A10 升高 ($P<0.05$) ; 与常规针刺组比较, 颈椎横突尖针刺组 C3d 降低和 S100A10 升高的幅度更明显, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。以上结果提示, 针刺可降低 PCIV 大鼠海马

中 A1 伤害性星形胶质细胞标志物 C3d 的表达, 同时上调 A2 保护性星形胶质细胞标志物 S100A10 的表达。详见图 3。



注: A 假手术组, B 模型组, C 常规针刺组, D 颈椎横突尖针刺组。与假手术组比较 ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较 ²⁾ $P<0.05$; 与常规针刺组比较 ³⁾ $P<0.05$ 。

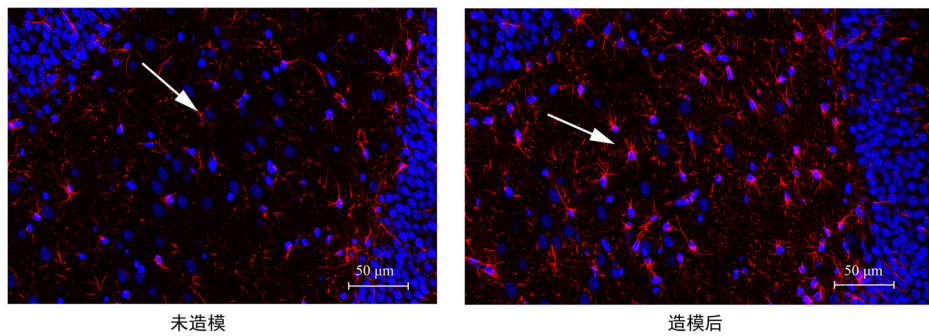
图 3 4 组大鼠海马 C3d 和 S100A10 相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.4 4 组大鼠海马 A1 星形胶质细胞和 A2 星形胶质细胞表达比较

造模后大鼠海马星形胶质细胞活化, 表现为 GFAP 染色 (红色) 明显增强, 星形胶质细胞胞体肥大, 突起变长变粗、数量增多。详见图 4。

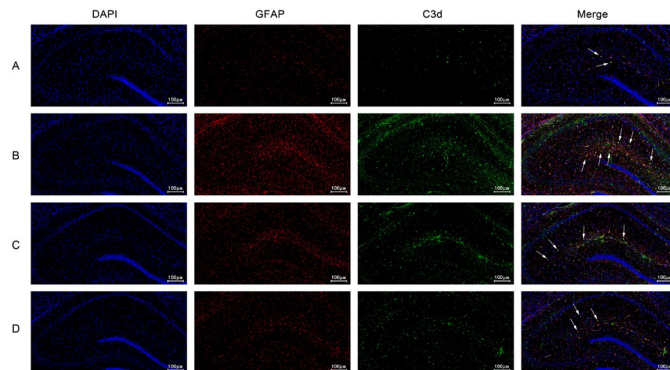
与假手术组比较, 模型组大鼠海马 A1 星形胶质细胞 (GFAP⁺C3d⁺细胞) 数量增加, A2 星形胶质细胞 (GFAP⁺S100A10⁺细胞) 数量减少 ($P<0.01$) ; 与模型组

比较, 两针刺组 A1 星形胶质细胞减少, A2 星形胶质细胞增多 ($P<0.01$) ; 与常规针刺组比较, 颈椎横突尖针刺组能更明显地减少 A1 星形胶质细胞数量而增加 A2 星形胶质细胞数量, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。以上结果提示, 针刺可以影响 PCIV 大鼠海马反应性星形胶质细胞表型极化, 表现为抑制 A1 伤害性星形胶质细胞的表达, 同时促进 A2 保护性星形胶质细胞的表达。详见图 5 至图 8。



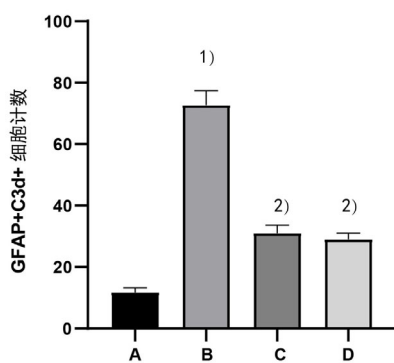
注: DAPI 蓝色, GFAP 红色。

图 4 大鼠海马星形胶质细胞的形态变化 (400×)



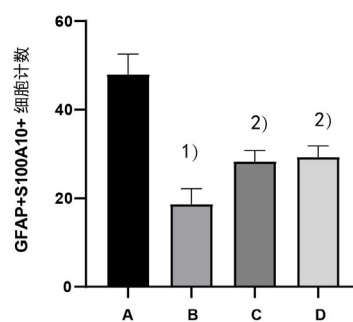
注: A 假手术组, B 模型组, C 常规针刺组, D 颈椎横突尖针刺组。

图 5 4 组大鼠 GFAP/C3d 免疫荧光双重染色结果比较 (200×)



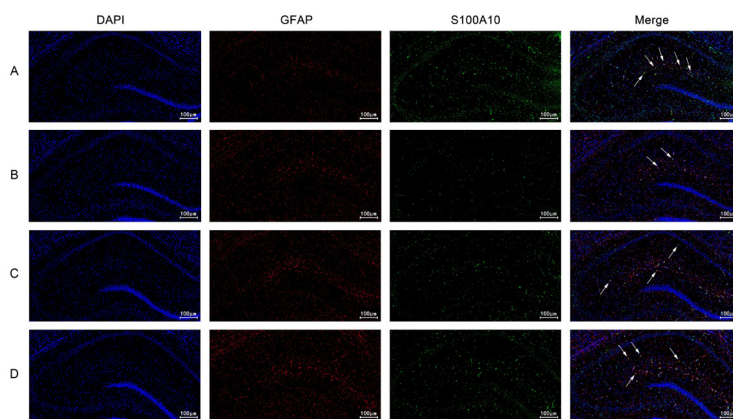
注:A 假手术组, B 模型组, C 常规针刺组, D 颈椎横突尖针刺组。与假手术组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$ 。

图6 4组大鼠A1星形胶质细胞(GFAP⁺C3d⁺细胞)计数比较($\bar{x} \pm s, n=3$)



注:A 假手术组, B 模型组, C 常规针刺组, D 颈椎横突尖针刺组。与假手术组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$ 。

图7 4组大鼠A2星形胶质细胞(GFAP⁺S100A10⁺细胞)计数比较($\bar{x} \pm s, n=3$)



注:A 假手术组, B 模型组, C 常规针刺组, D 颈椎横突尖针刺组。

图8 4组大鼠GFAP/S100A10免疫荧光双重染色结果比较(200×)

3 讨论

后循环缺血性眩晕是由椎-基底动脉系统血液循环不良导致后循环供血区发生缺血性脑损伤造成的。当脑缺血程度较轻,仅累及参与前庭觉形成的结构时,患者可表现为孤立的眩晕症状,若缺血累及脑功能区,则可能伴随头痛、肢体无力等局灶神经系统症状和体征。研究表明在后循环卒中发生前,眩晕是最常见的先兆症状之一^[4]。且具备脑血管病危险因素的眩晕患者未来发生后循环卒中或TIA的风险更高^[23]。故为了预防后循环卒中这种恶性事件的发生,PCIV的治疗除了改善患者的眩晕症状外,还应积极纠正和改善后循环灌注不足的状态。

风池、百会和内关穴是针刺治疗PCIV常用的穴位,可以有效改善眩晕并提高椎-基底动脉血流速度^[24]。颈椎横突尖针刺法针刺双侧C₂-C₆横突尖治疗PCIV,具有良好的临床疗效^[14-16]。本实验选择常规针刺法(百会、

双侧风池和内关)和颈椎横突尖针刺法(双侧C₂、C₄和C₆横突尖)对PCIV大鼠分别进行治疗,结果发现与模型组比较,常规针刺组和颈椎横突尖针刺组大鼠前庭神经核组织血流量均明显提高,平衡木得分均明显下降。且与常规针刺组相比,颈椎横突尖针刺组的大鼠VNN血流量明显增加,平衡木测试得分明显降低,提示颈椎横突尖针刺法也可以有效提高PCIV大鼠的后循环供血且改善大鼠的平衡能力。

另外,积极改善后循环缺血造成的脑损伤,以及预防可能发生的继发性脑损伤,对PCIV的治疗也是至关重要的。脑缺血和炎症反应会激活星形胶质细胞,使其转化成反应性星形胶质细胞,胶质纤维酸性蛋白GFAP是维持星形胶质细胞形态的一种主要细胞骨架蛋白,可以反映星形胶质细胞的可塑性和反应性,因此常被用作反应性星形胶质细胞的标志物^[25-26]。反应性星形胶质细胞分为A1和A2两种表型。A1反应性星形胶质

细胞丧失了吞噬突触、清除髓鞘碎片的能力,并分泌神经毒素使神经元和少突胶质细胞迅速死亡,表现为伤害性^[6-7,27]。另外还会促进趋化因子、促炎细胞因子以及一些参与补体级联反应的成分高度表达,从而破坏突触的结构以及影响突触传递^[28]。补体成分 3 是 A1 星形胶质细胞特异性且高度表达的一种基因,它在激活过程中产生 C3d(用作 A1 星形胶质细胞标志物),入侵的病原体可以通过与 C3d 结合来躲避免疫系统的识别和灭杀^[6,27]。

相反的, A2 反应性星形胶质细胞扮演的是一个保护性角色,它可以分泌和释放多种细胞因子和蛋白,从保护血脑屏障、抵抗氧化应激、抑制凋亡等多个角度在脑缺血早期发挥保护作用。还可以表达神经生长因子、脑源性神经营养因子、血管内皮生长因子等多种营养因子,促进神经发生、突触修复和血管再生^[29]。钙结合蛋白 S100A10 是 A2 星形胶质细胞的一种标志蛋白,可抑制 IL-6、IL-12、TNF- α 等多种促炎因子的表达,在 Toll 样受体信号转导和抗感染免疫过程中发挥重要作用^[27,30]。不同表型的反应性星形胶质细胞发挥着截然不同的作用,因此,良性调控星形胶质细胞极化可能是 PCIV 的一个治疗靶点。

为探究针刺是否可以影响 PCIV 大鼠海马反应性星形胶质细胞表型变化,该实验检测了反应性星形胶质细胞标志物 GFAP、A1 星形胶质细胞标志物 C3d 以及 A2 星形胶质细胞标志物 S100A10 的表达变化,并用 GFAP⁺C3d 共同标记 A1 星形胶质细胞,GFAP⁺S100A10 标记 A2 星形胶质细胞。实验结果显示,与假手术组相比,模型组的大鼠海马中 A1 星形胶质细胞标志物 C3d 的表达升高同时 A2 星形胶质细胞标志物 S100A10 表达下降, A1 星形胶质细胞数量增多同时 A2 星形胶质细胞数量减少。与模型组相比,两针刺组的大鼠海马 C3d 表达均下降而 S100A10 均升高, A1 星形胶质细胞均减少而 A2 星形胶质细胞均增多。而与常规针刺组相比,颈椎横突尖针刺组大鼠海马 C3d 下降而 S100A10 升高, A1 细胞减少而 A2 细胞增多,但两组间差异无统计学意义。以上结果提示,针刺可以下调 A1 伤害性星形胶质细胞的表达,且促进 A2 保护性星形胶质细胞的表达,从而良性调控 PCIV 大鼠海马反应性星形胶质细胞的表型分化。但颈椎横突尖针刺法在调控星形胶质细胞表型分化方面的作用和常规针刺法没有明显差别。

目前,关于针刺治疗后循环缺血性眩晕的研究大

部分为临床疗效研究,多以椎基底动脉血流速度、眩晕障碍量表、中医眩晕证候积分等作为评价指标,指标较为单一且缺乏对针刺治疗 PCIV 机制的研究。本研究通过观察针刺对 PCIV 大鼠反应性星形胶质细胞极化的影响,探讨针刺治疗 PCIV 潜在的生理机制,但样本量较少,且针刺如何抑制 A1 星形胶质细胞且促进 A2 星形胶质细胞表达的具体信号通路还有待研究。

综上,针刺可明显减轻 PCIV 大鼠后循环缺血的情况,针刺治疗 PCIV 的作用机制可能与良性调控反应性星形胶质细胞极化相关,但具体的调控机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] NEUHAUSER H K. Epidemiology of vertigo[J]. *Curr Opin Neurol*, 2007 (1): 40-46.
- [2] KARATAS M. Central vertigo and dizziness: epidemiology, differential diagnosis, and common causes[J]. *Neurologist*, 2008 (6): 355-364.
- [3] KARATAS M. Vascular vertigo: epidemiology and clinical syndromes[J]. *Neurologist*, 2011 (1): 1-10.
- [4] KIM H A, OH E H, CHOI S Y, *et al.* Transient vestibular symptoms preceding posterior circulation stroke: a prospective multicenter study[J]. *Stroke*, 2021 (6): e224- e228.
- [5] PATABENDIGE A, SINGH A, JENKINS S, *et al.* Astrocyte activation in neurovascular damage and repair following ischaemic stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2021 (8): 4280.
- [6] LIDDELOW S A, GUTTENPLAN K A, CLARKE L E, *et al.* Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia[J]. *Nature*, 2017 (7638): 481-487.
- [7] LIDDELOW S A, BARRES B A. Reactive astrocytes: production, function, and therapeutic potential[J]. *Immunity*, 2017 (6): 957-967.
- [8] LI B X, LI C, DU Y Z, *et al.* Efficacy and safety of acupuncture for posterior circulation ischemic vertigo: a protocol for systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020 (37): e22132.
- [9] ZHUANG Y, XING J J, LI J, *et al.* History of acupuncture research[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2013 (111): 1-23.
- [10] WEN Y, ZHANG C, ZHAO X F, *et al.* Safety of

- different acupuncture manipulations for posterior circulation ischemia with vertigo[J]. *Neural Regen Res*, 2016(8): 1267-1273.
- [11] LI X, LIU M, ZHANG Y, *et al.* Acupuncture for vertebrobasilar insufficiency vertigo: protocol for a systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017(50): e9261.
- [12] YANG C, LIU J, WANG J, *et al.* Activation of astroglial CB1R mediates cerebral ischemic tolerance induced by electroacupuncture[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021(9): 2295-2310.
- [13] TAO J, ZHENG Y, LIU W, *et al.* Electro-acupuncture at LI11 and ST36 acupoints exerts neuroprotective effects via reactive astrocyte proliferation after ischemia and reperfusion injury in rats[J]. *Brain Res Bull*, 2016(120): 14-24.
- [14] 刘艳, 柳刚. 柳刚治疗后循环缺血性眩晕经验[J]. 湖南中医杂志, 2022(8): 48-50.
- [15] 陈文文, 柳刚. 柳刚主任治疗颈椎病临证经验[J]. 按摩与康复医学, 2023(2): 30-32.
- [16] 汪佳佳. 颈椎横突旁针刺法治疗后循环缺血性眩晕的临床研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2022.
- [17] 刘阳, 孙建宁, 王堃, 等. 缺血性眩晕大鼠模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2013(1): 10-13.
- [18] 董永书, 行书丽, 周红艳, 等. 快捻久留针刺法对后循环缺血性眩晕大鼠的治疗作用分析[J]. 针灸临床杂志, 2018(8): 66-69.
- [19] 王增涛. WISTAR 大鼠解剖图谱[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2009: 11-16.
- [20] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位第 2 部分: 大鼠[J]. 针刺研究, 2021(4): 351-352.
- [21] ZHU J J, XIANG C, WU S H, *et al.* Identification of molecular mechanism underlying therapeutic effect of tanshinone IIA in the treatment of hypoxic vestibular vertigo via the NO/cGMP/BKCa signaling pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2019(7): 4203-4213.
- [22] YANG K, ZHOU Y, ZHOU L, *et al.* Synaptic plasticity after focal cerebral ischemia was attenuated by Gap26 but enhanced by GAP-134[J]. *Front Neurol*, 2020(11): 888.
- [23] BLASBERG T F, WOLF L, HENKE C, *et al.* Isolated transient vertigo: posterior circulation ischemia or benign origin?[J]. *BMC Neurol*, 2017(1): 111.
- [24] LI B, ZHAO Q, DU Y, *et al.* Cerebral blood flow velocity modulation and clinical efficacy of acupuncture for posterior circulation infarction vertigo: a systematic review and meta-analysis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022: 3740856.
- [25] LI D, LIU X, LIU T, *et al.* Neurochemical regulation of the expression and function of glial fibrillary acidic protein in astrocytes[J]. *Glia*, 2020(5): 878-897.
- [26] AMALIA L. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): neuroinflammation biomarker in acute ischemic stroke[J]. *J Inflamm Res*, 2021(14): 7501-7506.
- [27] ZHANG Q, LIU C, SHI R, *et al.* Blocking C3d⁺/GFAP⁺ A1 astrocyte conversion with semaglutide attenuates blood-brain barrier disruption in mice after ischemic stroke[J]. *Aging Dis*, 2022(3): 943-959.
- [28] LI S, HUANG H, ZHANG Y, *et al.* Bilirubin induces A1-Like reactivity of astrocyte[J]. *Neurochem Res*, 2023(3): 804-815.
- [29] TRENDLENBURG G, DIRNAGL U. Neuroprotective role of astrocytes in cerebral ischemia: focus on ischemic preconditioning[J]. *Glia*, 2005(4): 307-320.
- [30] LOU Y, HAN M, LIU H, *et al.* Essential roles of S100A10 in Toll-like receptor signaling and immunity to infection[J]. *Cell Mol Immunol*, 2020(10): 1053-1062.

收稿日期 2024-02-26