

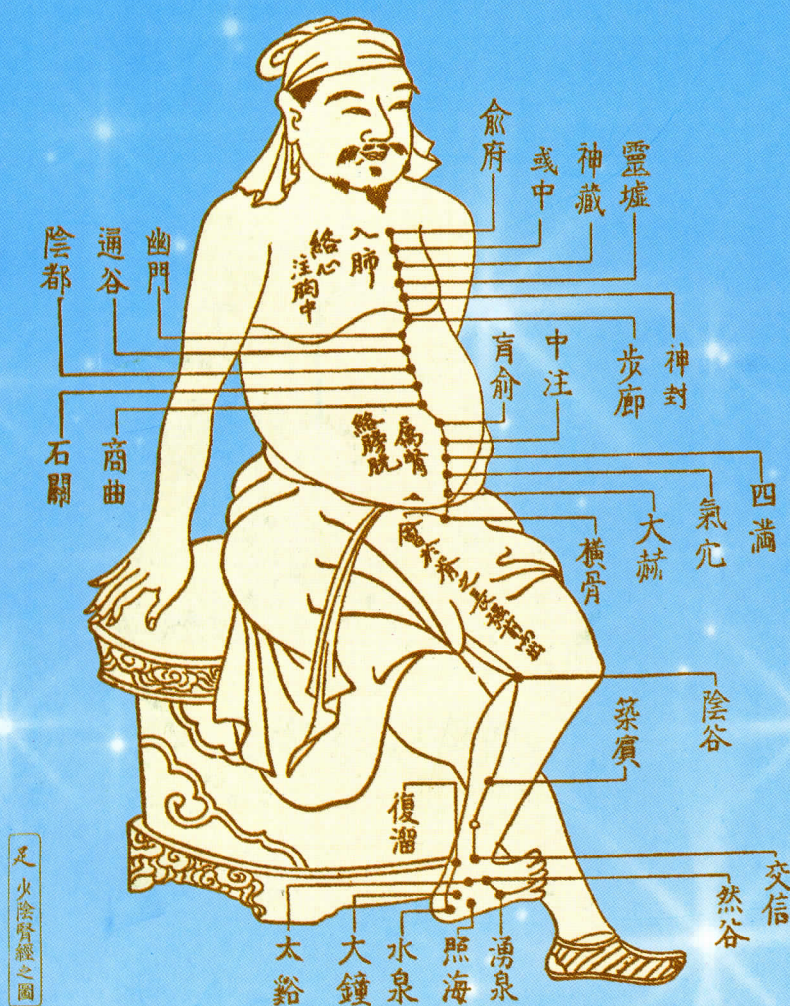
中国针灸®

CHINESE ACUPUNCTURE & MOXIBUSTION

2001 8

2001年8月第21卷第8期
August, 2001 Vol. 21, No. 8

- ★ 全国中医药优秀期刊
- ★ 中国医学专业核心期刊
- ★ 中文科技期刊论文统计源期刊



ISSN 0255-2930



中国针灸学会 中国中医研究院针灸研究所 主办
SPONSORS: China Association of Acupuncture and Moxibustion
Institute of Acupuncture and Moxibustion, China Academy of TCM

目次

“回顾与展望——新世纪针灸发展趋势研讨会”暨纪念《中国针灸》杂志创刊20周年专栏

- 针灸的现状和21世纪的任务 王雪苔(451)
- 针灸医学继承发展的新起点——忆五六十年代针灸医学的发展概况 田从豁(453)
- 《中国针灸》创刊前后二、三事 王本显(456)
- 中国针灸在美国第一个州立法经过 林声喜(458)
- 勤奋耕耘 励精图治 竭诚奉献 邓良月 刘炜宏(461)
- 基因科学与21世纪的针灸学 吴焕淦 张必萌 刘慧荣(464)
- 关于针灸学科研究的思考 许建阳(467)
- 无创痛穴疗学——未来的针灸医学 魏稼(469)
- 新世纪针灸学发展中应注意的几个问题及设想 路政 曹大明(472)
- 谈谈腹针疗法 薄智云(474)
- 指针合谷在结肠镜检中的应用 赵东升 杜艳军 康玉屏(477)

临床研究

- 针罐并用治疗慢性疲劳综合征临床分析 王卫红 吴士杰 卢永江,等(481)
- 针刺加穴位注射治疗颅脑外伤后综合征 魏玲(483)

经络与腧穴

- 胃脘下俞与胰腺相关性的实验研究 石锦萍 曾志勇 毛敬伟,等(485)
- 从大鼠胆汁流量及其 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 含量看经穴脏腑相关性 金淑英 孙世晓 桑希生(490)
- 缺盆穴的解剖结构和针刺深度 张建华 余安胜 赵英侠,等(493)

刺法与灸法

- 也谈针刺补泻定量化 叶德宝(495)
- 综合灸疗法治疗痹症150例 沈永勤(497)

机理探讨

- 耳针对血管性痴呆大鼠记忆及海马凋亡相关蛋白表达的影响 张雪朝 吕明庄 蒋乃昌,等(499)
- Ⅳ型胶原酶心包经上预处理对“内关”穴注射胰岛素后降糖作用及GLUT4表达分布的影响 钱东生 朱毅若 罗琳,等(501)

教学园地

- 人体常用穴位解剖学多媒体研究 张海东 严振国 余安胜(504)

针灸在海外

- 针刺治疗非洲恶性疟疾致疼痛110例 陈燕鸣 李研(507)

临床报道

- 耳针配合推拿治疗肩周炎136例 孙继诚(460)
- 氦氖激光照射治疗婴幼儿腹泻 宋付刚(466)
- 针刺配合耳穴贴压治疗牙痛30例 台杰 郭建中 矫燕(471)
- 斜刺天柱内关为主治疗急性胸腰椎扭伤13例 吴卫华 袁丽芳(476)
- 针刺三阴交穴治疗脑血管意外后尿潴留疗效观察 胡芬棠 刘建国(479)
- 粗针短刺加拔罐治疗膝内侧副韧带陈旧性损伤 李正祥(480)
- 火针治疗炎性外痔26例 邢守平 武润爱 安改香(484)
- 针刺推拿治疗颈肩肌筋膜炎30例 戚红亮(498)
- 局部围刺为主治疗急性乳腺炎60例 曲惠珍 吕少鹏(503)
- 针刺转复阵发性室上性心动过速30例 许宏珂 张晨霞 齐敬东,等(506)
- 针灸为主治疗盆腔根治术后尿潴留16例 周冬松 徐华(508)

专病治验

- 针刺加穴位注射治疗慢性咽炎 陈雷(488)
- 火针点刺治疗慢性咽炎 关健美 关胜美(488)
- 耳穴贴压配合大椎放血治疗慢性咽炎 杨保勇 马军(488)
- 穴注天突治疗慢性咽炎 陈红(488)
- 穴位贴磁治疗慢性咽炎 高洪琦(489)

文章编号:0255-2930(2001)08-0499-02

中图分类号:R245.32⁺3 文献标识码:A

机理探讨

耳针对血管性痴呆大鼠记忆及海马凋亡 相关蛋白表达的影响

张雪朝 吕明庄 蒋乃昌 贺志光

(贵阳医学院附属医院, 贵州 550004)

[摘要] 目的:探讨耳针对血管性痴呆大鼠(VD)学习记忆障碍的改善与 bcl-2、bax 凋亡相关蛋白表达的关系。方法:采用 4-血管阻断制备 VD 大鼠模型,针刺脑、肾耳穴后,作免疫组化、行为学测试及图像分析。结果:耳针治疗后 VD 大鼠海马 CA₁ 区 bcl-2、bax 蛋白表达增加,特别是 bcl-2 明显增加,与学习记忆成绩呈正相关。结论:耳针改善 VD 大鼠学习记忆,可能是通过针刺调控细胞凋亡,达到对 VD 大鼠海马神经元的保护作用。

[主题词] 耳针;痴呆,血管性/针灸疗法;记忆/针灸效应;海马/针灸效应

Effects of Auricular Needling on Memory and Expression of Apoptosis-Related Proteins in Hippocampus in Rats of Vascular Dementia

Zhang Xuechao, Lü Mingzhuang, Jiang Naichang, et al (Hospital Affiliated to Guiyang Medical College, Guizhou 550004)

[Abstract] **Purpose** To approach to relation of improvement of learning and memory with expression of apoptosis-related proteins bcl-2 and bax in the rat of vascular dementia(VD). **Methods** VD rat model was prepared by occlusion of four blood-vessels and after acupuncture at auricular points Nao and Shen, immunohistochemical analysis, behavioral observation and image pattern analysis were made. **Results** After treatment of auricular needling, expressions of bcl-2 and bax proteins in CA₁ region of hippocampus increased, especially, bcl-2 had obvious increase, which was positively correlated with learning and memory. **Conclusion** Auricular needling improves learning and memory in rats of VD possibly through control of apoptosis of cells to protect neurons of hippocampus.

[Key words] Auricular Acupuncture; Dementia, Vascular/acup ther; Memory/acup eff; Hippocampus/acup eff

随着社会人口老龄化,血管性痴呆(Vascular Dementia, VD)的发病逐年增加。为发挥耳针安全、无副作用、易于推广的优势,探索 VD 非药物疗法的新途径,本实验选用改良的 Pulsinelli 4-血管阻断(4-vessel occlusion, 4-VO)制备近似人类临床发病特点的、国际公认的 VD 大鼠模型^[1],并进行耳针治疗。鉴于细胞凋亡与痴呆及缺血的发病机理有密切关系^[2],本实验选用免疫组化、图像分析、Y-型迷宫等方法,研究大鼠治疗后学习记忆及海马 CA₁ 区凋亡相关蛋白 bcl-2、bax 表达的改变,旨在探讨 VD 发病及耳针治疗的可能机制,为临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

Wistar 大鼠,雄性,200~250g,随机分为 VD 模型组、耳针治疗组、假手术及正常对照组,每组 10 只。大鼠由中国人民解放军第三军医大学动物中心提供。

1.2 模型制备及耳针治疗

用水合氯醛(0.5 ml/100 g 体重)腹腔麻醉大鼠,背侧正中切口,用电凝针经第 1 颈椎横突翼小孔,闭塞双侧椎动脉。腹侧颈正中切口,分离双侧颈总动脉,24 小时后,可逆性夹闭双侧颈总动脉 3 次,每次 5 分钟,间隔 1 小时。根据华兴邦提供的方法^[3],定位大鼠脑、肾耳穴。模型制备成功后,即进行耳针治疗,每天 1 次,每次 30 分钟,共治疗 15 天。

1.3 学习记忆测试

用 3 等臂 Y-型迷宫箱测试大鼠学习记忆^[4]。大鼠学习记忆成绩分别以其测试达到连续 10 次中有 9 次正确反应时所需的电击次数表示。

1.4 免疫组织化学染色

常规麻醉、灌注、固定、取材、冰冻切片,厚 30 μ m。免疫组化染色按蔡文琴推荐的方法进行^[5]。兔抗鼠 bcl-2、bax 抗体(工作浓度 1:500)、DAB 购于 Sigma 公司,免疫组化试剂盒(HABC)购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.5 图像分析及统计学处理

用图像分析仪对阳性细胞进行计数。数据以 t 检验处理。

2 结果

2.1 行为学测试结果

VD模型组所需电击次数较对照组明显增加 ($P<0.01$);耳针治疗组所需电击次数较VD模型组减少 ($P<0.01$),但与对照组比较无显著差异。见表1。

表1 大鼠Y-型迷宫学习记忆成绩 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	术前	术后
耳针治疗组	10	5.6±0.7	8.1±2.0 [#]
VD模型组	10	6.0±1.6	18.1±2.6 [*]
对照组	10	5.6±1.0	5.8±1.2

注:与对照组比较, $^*P<0.01$;与模型组比较, $^{\#}P<0.01$

2.2 免疫组织化学染色结果

bcl-2, bax 在对照组海马 CA₁ 区有少量表达。VD模型组阳性细胞着色增强,数量明显增加,其中bax变化更为显著, bcl-2/bax 的比值较对照组明显降低。耳针治疗组 bcl-2、bax 阳性细胞也有增加,着色增深,尤其 bcl-2 变化显著, bcl-2/bax 的比值较对照组明显增高。阳性细胞相对密度见表2。

表2 大鼠海马 CA₁ 区 bcl-2、bax 免疫阳性细胞数
(个/mm², $\bar{x} \pm s$)

组别	n	Bcl-2	Bax
耳针治疗组	10	65.74±8.19 ^{**}	23.69±2.13 [*]
VD模型组	10	28.67±5.63 [*]	43.87±5.46 ^{**}
对照组	10	14.31±4.87	13.54±3.53

注:与对照组比较, $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$

3 讨论

VD是以脑血管疾病引起的学习记忆障碍为主要表现的一种病症。祖国医学将其归属到“健忘”、“呆痴”等症范畴,认为肾虚髓空是其根本。《灵枢·口问》云:“耳者,宗脉之所聚也”,十二经脉均上行于耳,针刺耳穴可调节全身脏腑器官的病症。另有实验证明耳针可改善脑血流速度^[6]。鉴于耳穴脑具有调节大脑皮层兴奋、抑制的作用,耳穴肾可益精血、补脑髓,畅活气血。本实验选用脑、肾耳穴治疗VD大鼠,结果显示,耳针可改善VD大鼠记忆。

海马是研究VD最多的结构,它是缺血损伤最敏感脑区,而且直接参与信息贮存和回忆。近年临床研究表明,脑反复缺血是VD发病的主要病因。研究还表明,在脑缺血时除神经元坏死外,还存在细胞凋亡^[7],且可能在缺血性脑损伤的病理过程中起着重要作用。缺血性脑损伤后产生大量的自由基、兴奋性氨基酸、NO聚集,并导致细胞内Ca²⁺超载,

诱导细胞凋亡的发生^[8]。Hochenbery等提出, bcl-2 的表达可显著地抑制过氧化物及自由基增加所诱导的细胞凋亡。bcl-2 与其家族成员之一 bax 可以发生异体二聚作用, bax 与 bcl-2 的比值在细胞凋亡过程中起关键作用,当 bcl-2 过量表达则细胞存活, bax 过量表达则细胞凋亡^[9]。

本实验显示,VD模型组海马CA₁区锥体细胞层 bax 阳性细胞呈强阳性、高密度表达,与大鼠学习记忆呈负相关,其 bcl-2/bax 的比值较对照组明显降低。提示,VD引起的学习记忆障碍与 bax、bcl-2 对细胞凋亡的调控有关。实验还显示,耳针治疗组海马CA₁区 bcl-2 阳性细胞呈强阳性,高密度分布,与大鼠学习记忆呈正相关,其 bcl-2/bax 的比值较对照组明显增高。提示,针刺脑、肾耳穴可以改善VD的学习记忆障碍,可能是通过调控细胞凋亡达到的。可以推测耳针改善VD学习记忆障碍有以下几个途径:①耳针改善脑供血、供氧,活化无效神经元,减轻脑水肿,改善细胞膜功能,缓解细胞内Ca²⁺超载。②耳针促进脑组织乳酸堆积的清除、抑制自由基反应,从而调节脑内兴奋性氨基酸递质代谢,减轻神经细胞损伤的作用。③耳针避免脑缺血后迟发性神经元死亡。

4 参考文献

- Pulsinelli W A, Brierley J B. A New Model of Bilateral Hemispheric Ischemia in the Unanesthetized Rat. *Stroke*, 1979;10:267
- 李卫平, 刘晓加, 林宏川, 等. 老年期痴呆患者脑内细胞凋亡现象的研究. *中华神经科杂志*, 1996;29(6):340
- 华兴邦, 李辞蓉, 周浩良, 等. 大鼠穴位图谱的研制. *实验动物与动物实验*, 1991;(1):1
- Barners CA. Learning and Memory: the Search for Their Neurobiological Mechanisms in the Rat. *TINS*. 1990; 11 (2):163
- 蔡文琴, 王泊云. 实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术. 四川科学技术出版社, 1994
- 陈峰, 戴晴, 杨易平, 等. 耳穴神门对动脉硬化症患者椎-基底动脉血即时作用观察. *中国针灸*, 1997;17(12):717
- Hill I E, MacManus J P, Rasquinha I, et al. DNA Fragmentation Indicative of Apoptosis Following Unilateral Cerebral Hypoxia-ischemia in the Neonatal Rat. *Brain Research*, 1995;676:398
- 许金明, 郑惠民. 细胞凋亡与缺血性脑损伤. *中风与神经疾病杂志*, 1997;14(4):251
- Oltvai Z N, Milliman C I, Korsmeyer S J. Bcl-2 Heterodimerizes in Vivo with a Conserved Homolog, Bax, That Accelerates Programmed Cell Death. *Cell*, 1993;74:609

(收稿日期:2000-09-20, 齐淑兰发稿)