

· 基础研究 ·

艾灸与电针督脉腧穴上调大鼠受损脊髓组织表达降钙素基因相关肽的对比研究

阮经文 李淑敏 李文杰 曾园山

【摘要】目的 比较对相同的督脉腧穴采取不同的刺激方式(艾灸与电针)对大鼠受损脊髓组织表达降钙素基因相关肽(CGRP)的影响,并探讨其可能的临床意义,为临床治疗脊髓损伤(SCI)提供可靠的理论依据。**方法** 将 20 只 Sprague-Dawley 大鼠分为正常对照组(对照组)、SCI 组、电针督脉组(电针组)和艾灸督脉组(艾灸组),并在显微镜下行脊髓全横断术(对照组除外)。自术后第 7 天开始,艾灸组和电针组分别采用艾灸和电针督脉腧穴的方法治疗 3 d(SCI 组不予任何治疗)。实验第 10 天各组分别取材并以免疫荧光组织化学染色的方法检测脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积变化,用 Western blot 法检测脊髓 CGRP 含量变化。**结果** 脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积比率比较,艾灸组($0.054\,579 \pm 0.007\,044$)与电针组($0.058\,581 \pm 0.006\,941$)明显高于 SCI 组($0.034\,939 \pm 0.005\,161$)($P < 0.05$);CGRP 含量比较,艾灸组($1.552\,409 \pm 0.165\,974$)与电针组($1.579\,893 \pm 0.159\,371$)明显高于 SCI 组($0.668\,149 \pm 0.073\,298$)($P < 0.05$);艾灸组与电针组脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积及其含量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);艾灸组、电针组与对照组脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积($0.058\,236 \pm 0.007\,044$)及其含量($1.527\,093 \pm 0.095\,643$)比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 艾灸督脉穴与电针督脉穴两种治疗方法均可以促进大鼠受损脊髓组织表达 CGRP,且两者对其影响程度无明显差异。

【关键词】 督脉; 艾灸; 电针; 脊髓损伤; 降钙素基因相关肽

The effects of moxibustion and electroacupuncture on the expression of calcitonin gene-related peptide in rats with spinal cord injury RUAN Jing-wen*, LI Shu-min, LI Wen-jie, ZENG Yuan-shan. *Department of Acu-moxibustion, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

【Abstract】 Objective To explore the effects of moxibustion and electroacupuncture at points on the Du meridian on the expression of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in rats with spinal cord injury (SCI). **Methods** Twenty Sprague-Dawley rats were divided into a normal control group, a SCI group, a moxibustion group and an electroacupuncture group. Rats in the latter three groups were subjected to spinal cord transection under a microscope. Moxibustion and electroacupuncture were administered to rats in those groups at points on the Du meridian daily for 3 days beginning on the 7th day after the operation. Immunofluorescence staining was used to observe any changes in the CGRP-positive area of the spinal cord's dorsal horn. Western blotting was used to detect changes in the content of CGRP in the spine. **Results** The CGRP-positive stained area of spinal cord's dorsal horn was significantly larger in the moxibustion and electroacupuncture groups than in the SCI group. CGRP content was also significantly higher. Any differences between the moxibustion and electroacupuncture groups were not significant. The CGRP-positive area and its content in the normal control group were not significantly different from those in the moxibustion and electroacupuncture groups. **Conclusions** Either moxibustion or electroacupuncture at points on the Du meridian can promote the expression of CGRP in rats after SCI. There is no significant difference between their effects.

【Key words】 Du meridian; Moxibustion; Electroacupuncture; Spinal cord injury; Calcitonin gene-related peptide

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.09.006

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(C03050309)

作者单位:510080 广州,中山大学附属第一医院针灸科(阮经文、李淑敏);中山大学中山医学院组织胚胎学教研室神经科学教研室(李文杰、曾园山)

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是骨科的常见病,年发病率为(12.1~57.8)/100万^[1],其所致截瘫或四肢瘫痪及并发症常较严重,给社会和家庭带来诸多不利影响^[2]。目前,SCI的传统治疗仅限于脊柱骨折脱位的复位固定、解除脊髓压迫、对症及康复治疗^[3-4],疗效不尽如人意。其目前的热点疗法也存在

不同的弊端,比如,营养因子及干细胞移植在损伤脊髓修复方面的研究虽已取得较大进展,但由此造成的髓鞘相关抑制因子生成、胶质瘢痕形成、免疫排斥等影响神经再生的不利因素仍无法避免,故其到临床的广泛应用还有一段很长的路要走。

有关针灸对 SCI 的修复作用在临床应用中已得到肯定,对针刺尤其是电针治疗 SCI 的基础研究也取得了一定的成果^[5-8]。而在针灸学中针刺有着同等重要地位并广泛应用于各种疑难病症的灸疗法,其温经通络作用从中医辨证的角度更适合于 SCI 的治疗。令人遗憾的是,目前关于灸治疗 SCI 的临床报道极少,灸治疗 SCI 的机制研究更鲜见报道。那么,灸灸是否与电针一样对 SCI 的治疗有效?作用是否一样?本研究通过对大鼠全横断性 SCI 模型的相同督脉腧穴分别采用灸灸与电针的方法进行治疗,对比观察两种治疗方法对大鼠受损伤脊髓组织表达降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)的影响,并探讨其临床意义。报道如下。

材料与方法

一、实验动物与分组

选用 200 ~ 250g 雌性 Sprague-Dawley 大鼠 20 只,分为 4 组:①正常对照组(对照组)不损伤,不治疗;②SCI 组行脊髓全横断术后不做任何治疗;③电针督脉组(电针组)自 SCI 术后第 7 天起采用电针督脉穴治疗 3 d;④灸灸督脉组(灸灸组)自 SCI 术后第 7 天起采用灸灸督脉穴治疗 3 d。各组存活时间均相同。

二、大鼠全横断性 SCI 模型的建立

造模方法参考文献[9-10]:SCI 组、电针组和灸灸组大鼠经腹腔注射 1% 戊巴比妥钠(25 ~ 30 mg/kg 体重)麻醉后,固定于自制的手术台上,切开皮肤,暴露 T₈₋₁₀,在手术显微镜下用咬骨钳撬除 T₉ 椎板,暴露 T₁₀ 脊髓节段,快速全横断脊髓。术后腹腔注射青霉素(每日 50 000 U/kg 体重,连续 3 d),人工排尿至取材或恢复自主排尿功能。

三、治疗方法

1. 取穴:取距离 SCI 段上下端两个椎体的棘突间隙(T₇ 和 T₁₁ 棘突下方,相当于督脉的至阳和脊中两穴),灸灸组与电针组取穴位置相同。

2. 操作:电针组每处各刺入 1 枚毫针,进针深度为 3 ~ 5 mm(切勿刺入胸腹腔或椎管),连接 G6805-2A 低频电子脉冲治疗仪,采用疏密波,强度 15 mV,频率 2 Hz,每次 20 min,每天 1 次,疗程为 3 d。灸灸组点燃艾条,对准应灸部位,于距皮肤 3 cm 处进行熏灸,每穴每次 10 min,每天 1 次,疗程为 3 d。

四、脊髓取材

各组动物均于实验第 10 天处死,置于冰盒上,撬开椎板,暴露脊髓,迅速取出 T₈₋₁₂ 脊髓节段置于 -70℃ 下保存;取 T₉₋₁₁ 脊髓节段用于 Western blot 检测, T₈ 与 T₁₂ 用于免疫荧光组织化学检测。

五、检测方法

1. 免疫荧光组织化学检测:冰冻切片后用冰丙酮固定 10 min, 0.01 mol/L PBS 漂洗后,加 10% 山羊血清在 37℃ 下孵育 30 min;甩去血清,加 CGRP 一抗于 4℃ 下过夜;弃一抗, PBS 漂洗后加入二抗,于 37℃ 下孵育 1 h;弃二抗, PBS 漂洗后用 60% 甘油封片。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。比较脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积占脊髓背侧 1/2 面积的比率,采用 IPP6.0 图像分析软件分析阳性染色区面积比率。

2. 蛋白免疫印迹检测:聚丙烯酰胺凝胶电泳后转膜、封闭,依次加入一抗、二抗,进行显色反应,暗室内曝光。CGRP 与 β -actin 灰度值的比值为 CGRP 的相对含量。

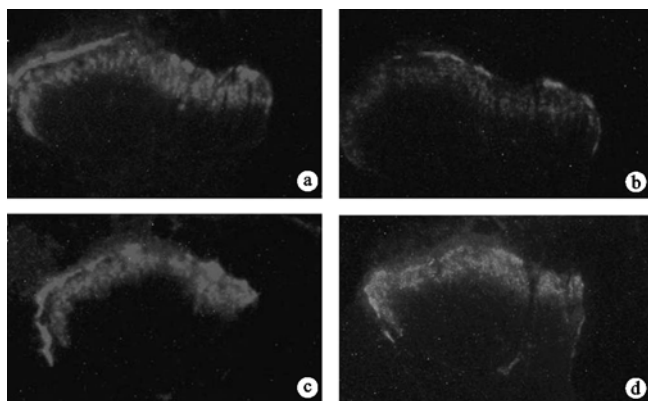
六、统计学分析

数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,各样本均数比较采用 SPSS 13.0 版统计软件进行分组设计的单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

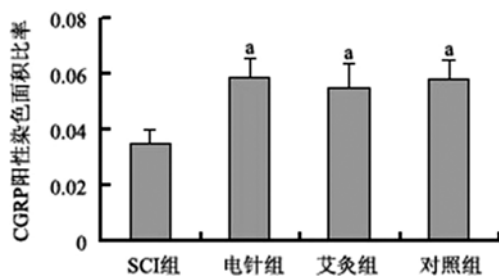
一、各组脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积对比

SCI 组 CGRP 阳性染色区面积比率为 (0.034 939 $\pm$ 0.005 161), 明显低于对照组的 (0.058 236 $\pm$ 0.007 044)、灸灸组 (0.054 579 $\pm$ 0.007 044)、电针组 (0.058 581 $\pm$ 0.006 941), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);灸灸组、电针组与对照组 CGRP 阳性染色区面积比率相近,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1 和 2。



注:a 示对照组,b 示 SCI 组,c 示电针组,d 示灸灸组

图 1 各组脊髓背角 CGRP 阳性染色区(免疫荧光组织化学染色, $\times 25$)

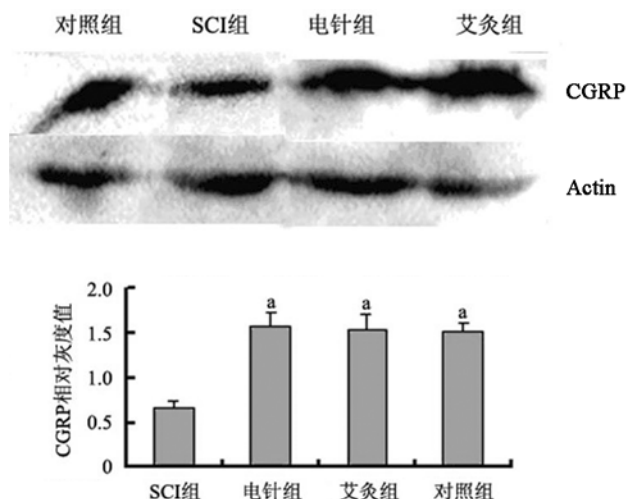


注:与SCI组比较,^a $P < 0.05$

图2 各组脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积比率对比

二、CGRP 含量的变化

SCI 组($0.668\ 149 \pm 0.073\ 298$)的 CGRP 条带与对照组($1.527\ 093 \pm 0.095\ 643$)、艾灸组($1.552\ 409 \pm 0.165\ 974$)和电针组($1.579\ 893 \pm 0.159\ 371$)相比,变得明显窄小,其相对灰度值的比较,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);而艾灸组与电针组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外,与对照组相比,艾灸组与电针组 CGRP 条带的宽度无明显变化,其相对灰度值比较,差异也无统计学意义($P > 0.05$)。见图 3。



注:与SCI组比较,^a $P < 0.05$

图3 各组脊髓背角 CGRP 条带形态和灰度值的比较

讨 论

CGRP 是一种含有 37 个氨基酸的神经肽,属于神经递质和激素形成的超家族成员之一,广泛分布于中枢及外周神经系统。作为一种新型的神经肽,CGRP 在神经系统疾病的发生过程中有着重要的作用。研究发现,SCI 可引起 CGRP 表达明显下调,且在 1 个月内,CGRP 水平没有恢复^[11]。也有研究证实,CGRP 对 SCI 后运动功能的恢复有一定促进作用^[12],对提高外周神经损伤后神经元的可塑性起重要作用^[13]。所以,在损伤早期,CGRP 的表达情况可以作为评定脊髓修复再生的一个指标。

前期的研究发现,电针督脉腧穴能够促进 CGRP 的表达^[9,14]。同时还发现,电针治疗后,SCI 大鼠的大脑皮质感觉运动区和脑干红核的神经元胞体密度恢复性增加^[15];联合应用电针督脉腧穴与神经干细胞移植治疗的 SCI 大鼠,其后肢运动功能得到明显的改善^[16-17]。这些研究一方面进一步说明了 CGRP 在 SCI 修复中发挥着重要作用,其在受损脊髓组织及邻近区域表达的变化可能影响 SCI 的康复效果;另一方面,也说明电针督脉腧穴可上调 SCI 区域组织 CGRP 的表达,这可能是针灸治疗 SCI 的机制之一。

在 SCI 的临床治疗中,针灸的疗效是肯定的^[5,18]。针灸疗法包含了针刺(现多使用电针)和艾灸两大部分。在临床应用中,某些疾病既可选用针法,也可选用灸法,而一些中医辨证属于热证的疾病,则不宜使用灸法。SCI 后所表现出的症状以四肢瘫痪或截瘫为主,其治疗目的是促进瘫痪肢体运动功能和感觉功能的恢复。在经络理论中,督脉总督一身之阳气,其循行之处即脊髓所在部位,而 SCI 会使督脉瘀阻不通,影响其布散阳气温煦四肢的功能,致四肢萎废不用而瘫。因此,SCI 的针灸治疗,除了选取督脉腧穴外,还应采用疏通或温通经络的治疗方法,使瘀化脉通,阳气畅达,以恢复其肢体功能。根据针灸理论,电针具有疏通经络的作用,其治疗 SCI 的疗效已有多篇文献报道^[5-8]。但是,其疗效的取得是否仅为电刺激的作用,而与穴位的作用无关仍存在疑义。灸法使用的艾绒(艾叶),味辛性温,具有温通经络的作用,故 SCI 亦是灸法的适应证。但有关临床应用灸法治疗 SCI 的文献报道却很少,这可能与灸法治疗 SCI 的相关机制不明有关。那么,采用灸法治疗 SCI 疗效如何?与电针的治疗效果是否相当? CGRP 的表达除了对电刺激敏感,对温热刺激是否敏感?

针对以上问题,我们采用相同的督脉腧穴,分别使用艾灸与电针的方法进行治疗,结果表明:SCI 后,脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积比率及 CGRP 含量较对照组明显减小($P < 0.05$);电针治疗后,大鼠全横断性 SCI 模型脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积比率及 CGRP 含量较 SCI 组明显增加($P < 0.05$);同样,艾灸治疗后,CGRP 阳性染色区面积比率及 CGRP 含量较 SCI 组亦有显著增加($P < 0.05$);且艾灸组、电针组与对照组的脊髓背角 CGRP 阳性染色区面积比率及 CGRP 含量两两比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。这表明,艾灸与电针两种治疗方法均可以促进大鼠损伤脊髓区域 CGRP 表达上调,可使 CGRP 恢复到接近正常水平;并且艾灸与电针促进 SCI 区域 CGRP 表达上调的作用程度相同。以上结果也提示,穴位电针治疗 SCI 取得的疗效并非电刺激的单独作

用,穴位温热刺激也能取得相当的效果。由此推断,在针灸治疗 SCI 的过程中,穴位的作用也是不容忽视的。

参 考 文 献

- [1] Van den Berg MEL, Castellote JM, Mahillo-Fernandez I, et al. Incidence of spinal cord injury worldwide: a systematic review. *Neuroepidemiology*, 2010, 34:184-192.
- [2] 欧阳亚涛,廖哲安,洗庆林,等. 62 例男性外伤性脊髓损伤患者性功能障碍及生活质量调查分析. *中华物理医学与康复杂志*, 2008, 30:534-536.
- [3] 李庆波,王传英,李丽,等. 早期康复治疗对脊柱骨折合并脊髓损伤患者术后疗效的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2008, 30:634-636.
- [4] 梁艳秋,岳翔,陈勇. MOTOMed 运动训练系统在脊髓损伤患者康复中的应用. *中华物理医学与康复杂志*, 2009, 31:482-483.
- [5] 王志红,王玉龙. 电针督脉结合综合康复治疗外伤性脊髓损伤. *中国康复*, 2006, 21:41.
- [6] 陈丽贤,段俊峰,詹欣荣,等. 电针结合耳针治疗急性脊髓损伤的临床研究. *中国康复理论与实践*, 2005, 11:934-935.
- [7] Chen YY, Zhang W, Chen YL, et al. Electro-acupuncture improves survival and migration of transplanted neural stem cells in injured spinal cord in rats. *Acupunct Electrother Res*, 2008, 33:19-31.
- [8] 丁英,曾园山,陈雅云,等. 督脉电针与夹脊电针对受损伤的大鼠脊髓背核神经元存活及其 NOS 表达的影响比较. *中国康复医学杂志*, 2006, 21:8-10.
- [9] Ding Y, Yan Q, Ruan JW, et al. Electro-acupuncture promotes survival, differentiation of the bone marrow mesenchymal stem cells as well as functional recovery in the spinal cord-transected rats. *BMC Neurosci*, 2009, 10:35-47.
- [10] Wakabayashi Y, Komori H, Kawa-Uchi T, et al. Functional recovery and regeneration of descending tracts in rats after spinal cord transection in infancy. *Spine*, 2001, 26:1215-1222.
- [11] 段平国,刘德明. 降钙素基因相关肽与神经损伤修复. *四川解剖学报*, 2006, 14:44-46.
- [12] 欧喜超,杨朝阳,刘玉军,等. 大鼠脊髓损伤后运动功能的恢复及前角运动神经元功能的改变. *中国康复理论与实践*, 2008, 14:231-233.
- [13] Miki K, Fukuoka T, Tokunaga A, et al. Calcitonin gene-related peptide increase in the rat spinal dorsal horn and dorsal column nucleus following peripheral nerve injury: up-regulation in a subpopulation of primary afferent sensory neurons. *Neuroscience*, 1998, 82:1243-1253.
- [14] Yan Q, Ruan JW, Ding Y, et al. Electro-acupuncture promotes differentiation of mesenchymal stem cells, regeneration of nerve fibers and partial functional recovery after spinal cord injury. *Exp Toxicol Pathol*, 2009, 10:1016-1022.
- [15] 郭家松,曾园山,陈玉玲,等. 督脉电针治疗大鼠全横断性脊髓损伤的实验研究. *中国针灸*, 2003, 23:153-155.
- [16] 李晓滨,曾园山,陈玉玲,等. 督脉电针与神经干细胞移植联合应用促进 SCI 横断大鼠前角运动神经元存活及减轻后肢肌萎缩的研究. *中国康复医学杂志*, 2006, 21:104-107.
- [17] 李晓滨,曾园山,陈玉玲,等. 督脉电针与神经干细胞移植对脊髓全横断大鼠后肢功能恢复的影响. *解剖学报*, 2004, 35:582-588.
- [18] 孔娟,朱乐英,彭银英. 艾灸气海穴关元穴治疗脊髓损伤患者尿潴留的疗效观察. *护理学报*, 2009, 16:66-67.

(修回日期:2010-07-10)
(本文编辑:吴 倩)

· 短篇论著 ·

综合康复对老年肩袖损伤患者肩关节运动功能的影响

吴华 顾旭东 陈迎春 姚云海 武建福 李岩 王伟

肩袖损伤是肩关节常见病之一,其发病率约占肩关节疾病的 17%~41%^[1]。我们采用综合康复方法治疗 13 例老年肩袖损伤患者,疗效比较满意,现报道如下。

一、资料与方法

1. 一般资料:2007 年 6 月至 2009 年 6 月间在本康复医学中心就诊的老年肩袖损伤患者 24 例,既往均无肩部疼痛病史,根据临床症状和体征及肩关节 MRI 检查确诊为肩袖损伤。将 24 例患者分为康复治疗组(治疗组)13 例和对照组 11 例。治疗组 13 例中,男 11 例,女 2 例;年龄为(66.5±4.7)岁;中度撕裂伤(1~3 cm)3 例,轻度撕裂伤(<1 cm)10 例。对照组 11 例中,男 8 例,女 3 例;年龄为(65.7±3.9)岁;中度撕裂伤(1~3 cm)1 例,轻度撕裂伤(<1 cm)10 例。2 组患者年龄、性别、病情程度的差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2. 治疗方法:2 组患者均接受非甾体抗炎药物等常规药物治疗。治疗组加用系统的综合康复治疗,包括物理因子治疗与功能训练。物理因子治疗包括①超声波疗法,强度以 0.5~2.0 W/cm² 为宜,15 min/次,1 次/d。②超短波疗法,微热量,1 次/d,12~15 min/次(疼痛、肿胀严重者可无热量)。③蜡疗,30 min/次,2 次/d。功能训练分 4 阶段进行,即①第 1 阶段,制动康复训练。肩关节外展位固定制动 1 周左右,开始在无痛范围内进行肩关节各个方向的被动活动,肩关节周围肌肉等长收缩练习及肘关节屈伸,腕及手的握力和钟摆、划圈训练,治疗后冰敷 5~10 min。②第 2 阶段,保护性康复训练。如肩袖撕裂>1 cm,继续用肩关节支具或肩前臂吊带固定。在无痛范围内进行肩关节的被动活动训练和主动助力活动训练,可以采用滑轮、棍棒、滑车、肩梯等器具辅助训练,但肩关节活动应控制在肩平面以下。进行不同角度肩关节周围肌肉等长收缩训练和肩关节周围肌肉闭链练习、手抗阻肩胛骨运动、姿势训练。③第 3 阶段,增强肌力训练。增加肩关节主动活动范围的训

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.09.007

作者单位:314000 嘉兴,浙江省嘉兴第二医院康复医学中心

通信作者:顾旭东, Email:jxgxd@hotmail.com