

· 基础研究 ·

电针足三里对功能性消化不良大鼠十二指肠半胱氨酸蛋白酶-1 和消皮素 D 的影响

刘嘉宝¹ 金舒文¹ 康朝霞² 刘译茗¹ 周丽³ 沈峰¹ 徐派的¹ 张红星¹ 潘小丽¹

¹湖北中医药大学针灸骨伤学院, 武汉 430061; ²贵州中医药大学针灸推拿学院, 贵阳 550025;

³武汉市中西医结合医院, 武汉 430022

通信作者: 潘小丽, Email: pxlzhenniu@163.com

【摘要】 目的 探讨电针足三里对功能性消化不良(FD)大鼠十二指肠细胞焦亡的影响和可能的作用机制。**方法** 将 24 只 7 日龄 Sprague-Dawley (SD) 大鼠按照随机数字表法分为空白组、模型组、电针组, 每组 8 只。模型组和电针组采用多因素诱导法(碘乙酰胺灌胃法+夹尾刺激法)制备 FD 大鼠模型。造模成功后, 电针组大鼠给予针刺“足三里”穴后连接韩式穴位神经刺激仪治疗 2 周, 空白组和模型组不予任何干预。于基线期、造模后、电针干预 7 d 和 14 d 后记录 3 组大鼠的体重, 于电针干预结束后检测 3 组大鼠的胃排空率和小肠推进率, 并采用酶联免疫法(ELISA)检测其血清白介素-1 β (IL-1 β)和白介素-6(IL-6)的表达水平, 采用实时荧光定量聚合酶链式反应检测 3 组大鼠十二指肠 IL-1 β 和 IL-6 转录水平, 采用免疫印迹法检测 3 组大鼠十二指肠半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1)p20 和消皮素 D(GSDMD)蛋白表达水平。**结果** 造模成功后, 模型组和电针组大鼠的平均体重与空白组造模成功后比较, 差异均有统计学意义($P<0.01$); 电针干预 7 d 和 14 d 后, 模型组和电针组大鼠的平均体重与空白组同时时间点比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 且电针组电针干预 7 d 和 14 d 后的平均体重与模型组同时时间点比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。电针干预结束后, 电针组大鼠胃内残留率和小肠推进率与模型组比较, 差异均有统计学意义($P<0.01$), 而模型组大鼠胃内残留率和小肠推进率与空白组比较, 差异均有统计学意义($P<0.01$)。电针干预结束后, 模型组和电针组大鼠血清中 IL-1 β 和 IL-6 表达水平、十二指肠组织 IL-1 β 和 IL-6 mRNA 的表达水平和十二指肠组织 GSDMD、caspase-1 p20 蛋白表达水平与空白组比较, 差异均有统计学意义($P<0.01$), 且电针组大鼠血清中 IL-1 β 和 IL-6 表达水平、十二指肠组织 IL-1 β 和 IL-6 mRNA 的表达水平和十二指肠组织 GSDMD、caspase-1 p20 蛋白表达水平与模型组比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 电针足三里可显著降低 FD 大鼠十二指肠的细胞焦亡水平, 改善十二指肠低度炎症, 进而减轻 FD 临床症状, 其作用机制可能与电针足三里可下调 caspase-1 p20、GSDMD-N 蛋白的表达水平, 降低 IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子的表达水平, 以及缓解 FD 大鼠十二指肠的低度炎症有关。

【关键词】 功能性消化不良; 电针; 细胞焦亡; 半胱氨酸蛋白酶-1; 消皮素 D

基金项目:国家自然科学基金青年项目(82060897); 湖北省自然科学基金项目(2021CFB548); 湖北省武汉市中医药科研项目青年项目(WZ22Q34); 湖北中医药大学“青苗计划”资助项目(2021zzx009)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.12.001

Effects of electroacupuncture at Zusanli on duodenal Caspase-1 and GSDMD of rats with functional dyspepsia

Liu Jiabao¹, Jin Shuwen¹, Kang Zhaoxia², Liu Yiming¹, Zhou Li³, Shen Feng¹, Xu Paidi¹, Zhang Hongxing¹, Pan Xiaoli¹

¹Hubei University of Chinese Medicine College of Acupuncture and Orthopedics, Wuhan 430061, China; ²Guizhou University of Traditional Chinese Medicine College of Acumox and Tuina, Guiyang 550025, China; ³Wuhan Hospital of Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan 430022, China

Corresponding author: Pan Xiaoli, Email: pxlzhenniu@163.com

【Abstract】 Objective To explore any effect of electroacupuncture (EA) at the Zusanli point on the scorch death of duodenal cells in rats with functional dyspepsia (FD) and possible mechanisms. **Methods** Twenty-four 7-day-old Sprague-Dawley rats were randomly divided into a blank group, a model group and an EA group, each of 8. FD was induced in both the model and EA group rats using iodoacetamide gavage with tail-clip stimulation. After successful modeling the EA group was given acupuncture at the Zusanli point and then connected with a Korean acupuncture point nerve stimulator for 2 weeks. The other 2 groups were not given any intervention. The rats' body weight was recorded before and after the modeling, as well as 7 and 14 days later. The gastric emptying rate and the small intes-

tine propulsion rate of the three groups were detected right after the EA intervention, and the serum expression levels of interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) were measured using enzyme-linked immunoassays. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reactions were used to detect the transcription levels of IL-1 β and IL-6 in the rats' duodenums, while western blotting was employed to assess the expression of caspase-1 P20 and dermatin D (GSDMD) in their duodenums. **Results** After successful modeling, the average body weight of the rats in the model and EA groups was significantly different from that in blank group, and after 7 and 14 days the average body weight of the former groups was significantly different from that of the blank group, with significant differences between the two groups as well. After the EA intervention significant differences were observed in gastric residue and small intestine propulsion rate between the EA group and the model group, as well as between the model and the blank group. After the intervention, there were significant differences between the blank group and the other two groups in the average expression of IL-1 β and IL-6 in serum, IL-1 β and IL-6 mRNA in the duodenum, as well as the GSDMD and caspase-1 p20 proteins in the duodenum. There were significant differences between the model and EA groups in all of the above measurements. **Conclusions** EA at the Zusanli point can significantly reduce the level of scorch death in the duodenum of FD rats, as well as relieve low-grade duodenal inflammation and the clinical symptoms of FD. Its mechanism may be related to the down-regulation of the expression of caspase-1 P20 and GSDMD-N protein, and of inflammatory factors such as IL-1 β and IL-6, relieving low-grade duodenal inflammation.

【Key words】 Functional dyspepsia; Electroacupuncture; Pyroptosis; Caspase-1; Dermatin D

Funding: National Natural Science Foundation of China (82060897); Natural Science Foundation of Hubei Province (2021CFB548); a Youth Project of the Traditional Chinese Medicine Scientific Research Foundation in Wuhan (WZ22Q34); Youth Program of Hubei University of Chinese Medicine (2021zzx009)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.12.001

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是常见的功能性胃肠疾病之一,主要起源于胃、十二指肠区域,以上腹部疼痛或烧灼感、餐后饱胀或早饱等消化道症状为主^[1]。流行病学调查显示,普通人群中 FD 患病率约 16%^[2-3]。FD 的发病机制较为复杂,目前学界认为,主要与胃肠动力障碍、内脏高敏感性、肠脑互动异常、社会心理因素、幽门螺旋杆菌感染和十二指肠低度炎症等密切相关,其中十二指肠低度炎症在 FD 中发挥了关键作用,是目前研究 FD 发病机制的重点^[4]。十二指肠低度炎症会引起肠上皮完整性受损,肥大细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞等数量明显增加,引起消化不良等症状,但导致十二指肠低度炎症的机制尚不明确^[5-6]。

目前,FD 的药物治疗方法有限,且面临长期使用副作用明显、疗效不显著等问题。作为非药物治疗方法之一,针灸治疗 FD 的有效性在多项临床试验和循证医学中已得到证实^[7-9]。有研究运用数据挖掘技术分析了针灸治疗 FD 的取穴规律,结果发现,足三里穴为选用频率最高的穴位^[10]。哈佛大学研究团队证实,电针足三里可通过刺激免疫相关的神经通路,缓解小鼠的全身性炎症反应^[11]。既往的研究也表明^[12-13],电针可通过改善胃肠动力、调节脑肠肽表达水平、减轻焦虑抑郁状态、降低血清相关炎性因子表达和恢复肠黏膜屏障等作用来减轻 FD 症状。Nojkov 等^[14]的研究显示,相较于健康对照者,FD 患者十二指肠黏膜半胱氨酸蛋白酶-1 (caspase-1) 阳性细胞数量明显增加;而

caspase-1 活化是细胞焦亡经典途径的重要标志。细胞焦亡是一种依赖炎症小体的炎症性程序性细胞死亡方式,炎症小体感知危险后会招募并活化 caspase-1, caspase-1 切割并激活白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 等炎症因子,切割底物消皮素 D (Gasdermin-D, GSDMD) 的 N 端序列,使其结合到膜上产生膜孔,导致细胞破裂死亡^[15]。

本研究旨在通过观察电针足三里对 FD 大鼠 caspase-1 和 GSDMD 表达水平、血清和十二指肠组织 IL-1 β 、白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 水平的影响,从细胞焦亡角度探讨电针足三里调节 FD 十二指肠低度炎症可能的作用机制。

材料与方法

一、实验动物

选取无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 7 日龄 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠,体重 (20 $\pm$ 5) g,由三峡大学实验动物中心提供[许可证号:SYXK(鄂)2017-0067],饲养于湖北中医药大学 SPF 实验动物中心。动物房内温度保持恒温 22~25℃,相对湿度 50%~60%。母鼠全价颗粒饲料喂养,自由饮水,幼鼠母乳喂养,适应性喂养 3 d 后开始实验。

二、主要试剂和仪器设备

caspase-1 抗体(美国 Abclonal 公司,批号 A0964); GSDMD 抗体(美国 Abcam 公司,批号 ab209845);辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记羊抗兔

二抗(武汉博士德生物工程有限公司,批号 BA1054),兔多抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)(美国 Proteintech 公司,批号 10494-1-AP);酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号 E-EL-M0044c、E-EL-M0037c);二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号 DA1010);碘乙酰胺[阿拉丁试剂(上海)有限公司,批号 I105563],无水蔗糖(国药集团,批号 10021463),戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司,批号 P3761);总 RNA 抽提试剂 Trizol(Ambion,批号 15596-026);无核酸酶水(上海生工生物,批号 B541018);甲醇(国药集团,批号 10014118),异丙醇(国药集团,批号 4564634);Fast SYBR™ Green Master Mix(美国 Thermo 公司,批号 4385610);DNA 电泳 Marker(北京全式金生物技术有限公司,货号 BM101-01)。

韩式穴位神经刺激仪(南京济生医疗科技有限公司, HANS-200A 型);一次性使用无菌针灸针(苏州医疗用品厂有限公司,直径 0.28 mm,长 25 mm);手持式电动组织研磨器(无锡德凡仪器有限公司, G55500-0000 型);垂直电泳槽(美国 BIO-RAD 公司, DYCZ-24DN 型);电转仪(美国 BIO-RAD, DYCZ-40 型);微量移液器(德国 Eppendorf 公司);实时荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司, CFX96 型);紫外分光光度(美国 Nanodrop, 2000 型);酶标仪(美国 Molecular Devices 公司, Flexstation3 型)。

三、实验分组和造模方法

将 24 只大鼠按随机数字表法随机分为空白组、模型组和电针组,每组 8 只大鼠。3 组大鼠造模方法如下。模型组和电针组大鼠参考多因素诱导法(碘乙酰胺溶液+夹尾刺激法)复制 FD 模型^[16],空白组不夹尾刺激,仅采用蔗糖溶液灌胃。

碘乙酰胺溶液灌胃方法:模型组和电针组参考多因素诱导法(碘乙酰胺溶液+夹尾刺激法)复制 FD 模型^[16],每日灌胃 1 次,每次灌胃 0.2 ml(2%蔗糖溶液+0.1%碘乙酰胺的混合溶液),空白组大鼠仅给予 2%蔗糖溶液 0.2 ml 每日灌胃 1 次。3 组大鼠均连续灌胃 6 d 后改为常规饲养至 8 周龄。

夹尾刺激方法:模型组和电针组大鼠常规饲养至 8 周龄后,用包裹无菌纱布的止血钳适度用力夹取大鼠尾部后 1/3 处,令同笼大鼠暴怒并与其他大鼠撕咬,以不破皮、出血为度,每次刺激 30 min,每日 2 次(刺激间隔时间至少 4 h 以上),连续刺激 14 d。空白组不行夹尾刺激。造模期间每日固定时间段记录 3 组大鼠的体重和饮食量。

造模成功标准^[17]:模型组和电针组大鼠造模期间精神状态由激怒、焦虑、烦躁逐渐转为萎靡、倦怠;活动度由活跃、自发打斗逐渐变得倦卧扎堆,抓捕反应迟钝;毛发由光泽、柔顺变为枯黄、粗糙;粪质由干燥、无臭、长椭圆形变得稀溏甚至不成形,伴有不消化颗粒,有酸臭味;进食量显著减少,体重进行性减轻。经评价,模型组和电针组共 16 只大鼠均造模成功。

四、电针干预方法

电针组大鼠于造模结束后第二天对进行电针干预,大鼠穿戴自制鼠衣并暴露双后肢,固定后悬挂于鼠架上。参考《实验针灸学》^[3]穴位定位,选取双侧“足三里”穴,位于腓骨小头下 3.5 mm 处。酒精局部消毒后,使用 0.28 mm×25 mm 一次性无菌针灸针直刺 5~7 mm 后连接韩式穴位神经刺激仪,参数设置为连续波,频率 2 Hz,强度 1 mA,每次干预 20 min,每日 1 次,连续干预 14 d。空白组和模型组在电针干预期间均穿鼠衣,但不给予其他任何处置。

五、体重监测

记录 3 组大鼠在基线期、造模成功后、电针干预 7 d 后和 14 d 后的体重,计算 3 组大鼠的平均体重,观察 3 组大鼠不同时间点的平均体重,以明确造模和电针干预对大鼠体重的影响。

六、取材和检测

电针干预结束后,3 组大鼠均于禁食和不禁水 24 h 后称重,按照大鼠体重以营养半固体糊(2 ml/100 g 体重)、墨汁(1 ml/100 g 体重)依次进行灌胃,然后按 5 mg/100 g 体重腹腔注射 2%戊巴比妥钠溶液,取腹主动脉血 2 ml,低温离心 15 min 后吸取上清液,-20 ℃冻存备检。另剪取十二指肠组织(放入液氮中冷冻保存待检)和全胃,记录胃全重,剪开胃体冲去胃内容物后用滤纸拭干记录胃净重,同时测量并记录小肠总长度和墨汁推进长度(即幽门至墨汁前沿的长度)。胃内残留率=(胃全重-胃净重)/所给糊重×100%;小肠推进率=墨汁推进长度/小肠总长度×100%。

七、ELISA 测定

根据 ELISA 试剂盒说明书,检测 3 组大鼠血清样本 IL-1β 和 IL-6 浓度,绘制出标准曲线,操作步骤按照试剂盒说明书进行。

八、实时荧光定量聚合酶链式反应检测

采用实时荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测十二指肠组织 IL-1β、IL-6 的转录水平。取适量样品,采用 Trizol 法提取大鼠十二指肠组织总 RNA,采用微量分光光度计测定 RNA 浓度,按照逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录合成 cDNA。随后在荧光 PCR 仪器上进行 IL-1β、IL-6 基因

的 mRNA 扩增。扩增条件为:95 ℃ 激活 2 min,95 ℃ 变性 30 s,60 ℃ 退火 30 s,共 40 cycle,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 IL-1 β 、IL-6 基因相对表达量。

IL-1 β 上游引物为 5'-TGCCACCTTTTGACAGT-GATG-3',下游引物为 5'-TGATGTGCTGCTGCGAGATT-3',扩增片段长度为 138 bp;IL-6 上游引物为 5'-CTT-GGGACTGATGCTGGTGAC-3',下游引物为 5'-GCCAT-TGCACAACCTCTTTTCTC',扩增片段长度为 166 bp;GAPDH 上游引物为 5'-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3',下游引物为 5'-TTTGAGGGTGCAGCGAACTT-3',扩增片段长度为 253 bp。

九、免疫印迹法检测

采用免疫印迹法 (Western Blot) 检测十二指肠组织 caspase-1、GSDMD 蛋白表达水平。取大鼠十二指肠组织,加入 0.3 mL 放射免疫沉淀法缓冲液 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解液进行匀浆裂解,然后放入低温高速离心机内,12000 rpm 离心 15 min 后取上清液,采用二辛可宁酸 (bicinchoninic acid, BCA) 试剂盒进行蛋白定量,随后加入 5X 蛋白上样缓冲液进行加热使蛋白变性,配置十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶后进行上样、电泳、转膜、封闭、孵育抗体等步骤,采用增强化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 显影,利用 Image J 软件分析条带灰度值,计算蛋白表达水平。

十、统计学处理

采用 SPSS 26.0 版统计学软件进行分析,计量资料采用夏皮洛-威尔克正态性检验 (Shapiro-Wilk test),符合正态分布的数据采用 ($\bar{x} \pm s$),两组间比较采用配对样本 t 检验,多组间差异比较采用单因素方差分析 (analysis of variance, ANOVA),方差齐者用最小显著性差异法 (Least-Significant Difference, LSD),方差不齐者用 Tamhanes, T2 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用数据处理和图形软件 Graphpad Prism 8.0 版绘制图表。

结 果

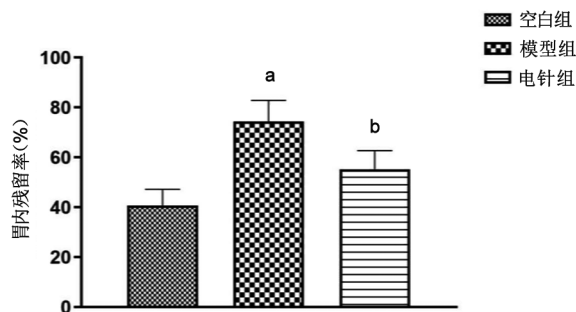
一、3 组大鼠不同时间点平均体重比较

基线期,3 组大鼠平均体重组间比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);造模成功后,模型组和电针组

大鼠的平均体重与空白组造模成功后比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),但模型组造模成功后的平均体重与电针组造模成功后比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);电针干预 7 d 和 14 d 后,模型组和电针组大鼠的平均体重与空白组同时时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),且电针组电针干预 7 d 和 14 d 后的平均体重与模型组同时时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),详见表 1。

二、电针干预对 FD 大鼠胃内残留率的影响

电针干预结束后,电针组大鼠胃内残留率明显低于模型组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),而模型组大鼠胃内残留率与空白组比较,差异亦有统计学意义 ($P < 0.01$),详见图 1。

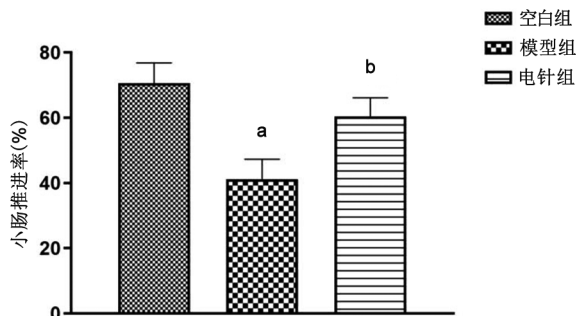


注:与空白组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$

图 1 3 组大鼠胃内残留率比较

三、电针干预对 FD 大鼠小肠推进率的影响

电针干预结束后,电针组大鼠小肠推进率显著高于模型组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),而模型组大鼠小肠推进率显著低于空白组,差异亦有统计学意义 ($P < 0.01$),详见图 2。



注:与空白组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$

图 2 3 组大鼠小肠推进率比较

表 1 3 组大鼠不同时间点平均体重比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	基线期	造模成功后	电针干预 7 d 后	电针干预 14 d 后
空白组	8	16.53 $\pm$ 0.73	260.82 $\pm$ 23.89	321.77 $\pm$ 24.71	381.69 $\pm$ 23.82
模型组	8	16.38 $\pm$ 1.45	179.67 $\pm$ 15.27 ^a	223.82 $\pm$ 13.31 ^a	270.71 $\pm$ 14.26 ^a
电针组	8	15.81 $\pm$ 1.32	181.29 $\pm$ 15.21 ^a	245.89 $\pm$ 14.39 ^{ab}	316.00 $\pm$ 17.31 ^{ab}

注:与空白组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

四、3 组大鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 的表达水平

电针干预结束后,模型组和电针组大鼠的血清中 IL-1 β 和 IL-6 表达水平与空白组比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),且电针组大鼠的血清中 IL-1 β 和 IL-6 表达水平与模型组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),详见表 2。

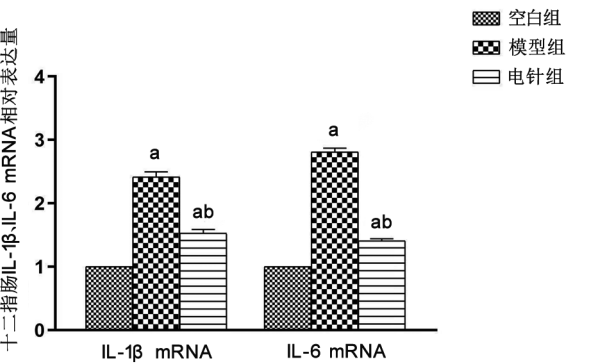
表 2 3 组大鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 的表达水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	IL-1 β	IL-6
空白组	8	35.97 $\pm$ 2.46	16.87 $\pm$ 1.67
模型组	8	95.04 $\pm$ 4.31 ^a	65.33 $\pm$ 2.85 ^a
电针组	8	54.63 $\pm$ 2.84 ^{ab}	31.62 $\pm$ 2.02 ^{ab}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

五、3 组大鼠十二指肠组织 IL-1 β 和 IL-6 mRNA 的表达水平

电针干预结束后,模型组和电针组十二指肠组织 IL-1 β 和 IL-6 mRNA 的表达水平与空白组比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),且电针组大鼠十二指肠组织 IL-1 β 和 IL-6 mRNA 的表达水平与模型组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),详见图 3。



注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

图 3 各组大鼠十二指肠组织 IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达

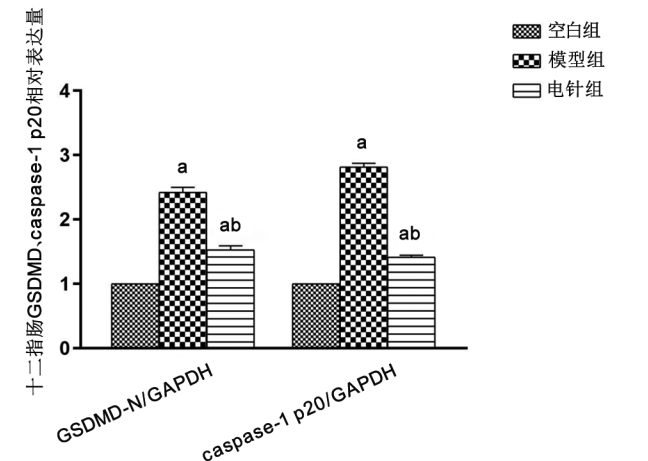
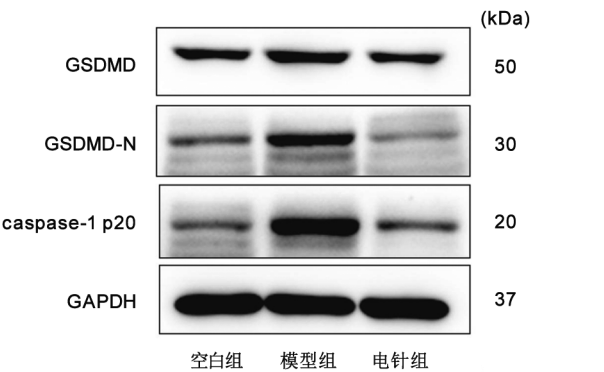
六、3 组大鼠十二指肠组织 GSDMD 和 caspase-1 p20 蛋白表达水平

电针干预结束后,模型组和电针组十二指肠组织 GSDMD 和 caspase-1 p20 蛋白表达水平与空白组比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),且电针组十二指肠组织 GSDMD 和 caspase-1 p20 蛋白表达水平与模型组比较,差异亦有统计学意义($P<0.05$),详见图 4。

讨 论

多因素诱导法是目前使用比较广泛的 FD 造模方法之一。电针可对引起 FD 的多种病理生理机制如胃动力不足、内脏高敏感性、十二指肠炎症、社会心理因素刺激等多个方面进行调控,从而起到治疗作用^[18]。本课题组对大鼠进行碘乙酰胺溶液灌胃和夹尾刺激法 14 d 后,模型组和电针组大鼠出现体重下降,胃残留率增加,小肠推进率减少,与本课题组前期的研究结果一致^[12-13]。本研究结果显示,电针干预结束后,电针组大鼠的体重增加,胃残留率减少,小肠推进率增高,FD 消化不良症状得到显著改善。

足三里穴位是足阳明胃经合穴,胃腑之下合穴,具有健脾和胃、补益气血、扶正培元等功效,在临床上常用于治疗多种急慢性胃肠疾病,如肠易激综合征、FD、糖尿病胃轻瘫等^[19-20]。IL-6 主要由活化的免疫细胞(如巨噬细胞、淋巴细胞以及肠上皮细胞)分泌,介导多种慢性炎症反应^[21]。有研究团队利用现代交叉遗传学策略标记特定神经元,采用电针刺激脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的全身性炎症反应模型,发现低强度(0.5 mA)电针足三里穴位即可激活免疫相关通路发挥抗炎作用,血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α)水平降低 38.5%;而高强度(3 mA)电



注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

图 4 3 组大鼠十二指肠组织 GSDMD 和 caspase-1 p20 表达

针刺刺激还可激活其他不同的信号通路发挥联合抗炎作用,血清 TNF- α 水平降低了 71.5%,而且还能降低 IL-1 β 、IL-6 炎症因子水平^[11]。以上研究为电针足三里调节机体炎症和免疫反应提供了有力的证据。故本研究选用足三里穴位作为靶标穴位。本研究结果显示,电针干预结束后,大鼠血清和十二指肠 IL-6 的表达显著下调,证明电针足三里可减轻 FD 十二指肠炎症反应。

细胞焦亡为程序性细胞死亡(programmed cell death,PCD)方式之一,并且可以释放多种炎症因子,扩大局部或全身炎症反应,故又称促炎症细胞坏死^[15,22]。它是机体一种重要的先天性免疫反应,在抗击多种炎症过程中发挥重要作用。目前认为,细胞焦亡主要是由 Gasdermin 家族成员 GSDMD、GSDME 等介导的 PCD,并依赖于炎症小体和 caspase-1 或 caspase-4/5/11^[23]。caspase-1 属于保守的半胱氨酸蛋白酶 caspase 家族,主要以非激活的酶原形式 caspase-1 前体存在于细胞质中,在响应上游信号后被激活,通过自剪切形成由大亚基 p20 和小亚基 p10 组成的异源二聚体。激活的 caspase-1 特异性识别底物分子 GSDMD 并将其裂解 GSDMD-N 端和 GSDMD-C 端,切割 IL-1 β 前体并促使其成熟,裂解的 GSDMD-N 端在聚集在细胞膜上形成孔洞,使细胞内离子平衡丧失、渗透压增加、水分内流、细胞肿胀裂解,细胞内炎症介质释放。既往的研究表明,IL-1 β 作为 caspase-1 炎症信号通路下游的炎症因子,在肠道炎症发生发展过程中起重要作用,IL-1 β 能通过自分泌或旁分泌来刺激其他细胞因子和炎症递质产生,还能够增加肠上皮细胞紧密结合部的通透性,导致肠上皮屏障功能损伤和炎症^[21]。本研究结果显示,电针干预结束后,模型组大鼠十二指肠组织中的 GSDMD-N 和 caspase-1 p20 的表达水平显著上调,血清 IL-1 β 含量和十二指肠组织 IL-1 β mRNA 的表达明显上升;电针组大鼠十二指肠组织中的 GSDMD-N、caspase-1 p20 表达水平明显下调,血清 IL-1 β 含量和十二指肠组织 IL-1 β mRNA 的表达明显下降。以上结果提示,模型组 FD 大鼠十二指肠组织的 caspase-1 活化后分割 GSDMD 促使 GSDMD 裂解成 GSDMD-N 端并释放,可促使 IL-1 β 成熟;细胞膜破裂释放出 IL-1 β ,会导致十二指肠炎症的发生,而电针足三里可抑制 FD 大鼠十二指肠组织中的 caspase-1 和 GSDMD 的表达,降低血清和十二指肠组织中的 IL-1 β 含量,减轻十二指肠炎症反应。

综上所述,电针 FD 大鼠足三里可通过降低十二指肠组织中的 caspase-1 p20、GSDMD-N 蛋白和炎症因子 IL-1 β 等焦亡分子标志物的表达水平来抑制细胞焦亡,同时还可显著改善 FD 大鼠消化不良的症状和十二指肠炎症反应。本研究仍存在一些不足之处,如细

胞焦亡信号通路的相关因子众多,本研究只检测了细胞焦亡经典通路中的 GSDMD、caspase-1 p20 和炎症因子 IL-1 β 等部分指标,对于细胞焦亡中的细胞形态学改变,以及细胞焦亡在体动态过程的检测等均尚未涉及;且未探讨细胞焦亡非经典通路在电针治疗 FD 中的作用,这些均需在后续研究中进行探讨。

参 考 文 献

- [1] Ford AC, Mahadeva S, Carbone MF, et al. Functional dyspepsia[J]. Lancet, 2020, 396(10263):1689-1702. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30469-4.
- [2] Ford AC, Marwaha A, Sood R, et al. Global prevalence of, and risk factors for, uninvestigated dyspepsia: a meta-analysis [J]. Gut, 2015, 64(7): 1049-1057. DOI:10.1136/gutjnl-2014-307843.
- [3] Nasseri-Moghaddam S, Mousavian AH, Kasaeian A, et al. What is the prevalence of clinically significant endoscopic findings in subjects with dyspepsia? Updated systematic review and meta-analysis [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2022;S1542-3565(22)00594-8. DOI:10.1016/j.cgh.2022.05.041.
- [4] Ford AC, Mahadeva S, Carbone MF, et al. Functional dyspepsia[J]. Lancet, 2020, 396(10263): 1689-1702. DOI:10.1016/S0140-6736(20)30469-4.
- [5] 王丹, 张红星, 荣培晶, 等. 电针对功能性消化不良肝郁脾虚模型大鼠十二指肠 TLR4、NF- κ B p65 的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(09): 1337-1340. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3250.2020.09.033.
- [6] Vanheel H, Vicario M, Vanuytsel T, et al. Impaired duodenal mucosal integrity and low-grade inflammation in functional dyspepsia[J]. Gut, 2014, 63(2): 262-271. DOI:10.1136/gutjnl-2012-303857.
- [7] Yang JW, Wang LQ, Zou X, et al. Effect of acupuncture for postprandial distress syndrome: a randomized clinical trial[J]. Ann Intern Med, 2020, 172(12): 777-785. DOI:10.7326/M19-2880.
- [8] Ma T, Zeng F, Li Y, et al. Which subtype of functional dyspepsia patients responses better to acupuncture? A retrospective analysis of a randomized controlled trial [J]. Forsch Komplementmed, 2015, 22(2):94-100. DOI:10.1159/000380983.
- [9] Mao X, Guo S, NI W, et al. Electroacupuncture for the treatment of functional dyspepsia: a systematic review and meta-analysis [J]. Medicine, 2020, 99(45): e23014. DOI: 10.1097/MD.00000000000023014.
- [10] 刘武, 马望, 刘晓娜, 等. 基于数据挖掘的功能性消化不良针灸取穴规律[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(10): 157-159. DOI:10.11954/ytctyy.201910053.
- [11] Liu S, Wang ZF, Su YS, et al. Somatotopic organization and intensity dependence in driving distinct npy-expressing sympathetic pathways by electroacupuncture[J]. Neuron, 2020, 108(3): 436-450 e437. DOI:10.1016/j.neuron.
- [12] 杨云, 徐派的, 辛玉, 等. 神经降压素介导的脑-肠轴在电针治疗功能性消化不良大鼠中的作用[J]. 针刺研究, 2016, 01: 35-39, 50. DOI:10.13702/j.1000-0607.2016.01.006.
- [13] 徐派的, 张红星, 杨云, 等. 电针对功能性消化不良模型大鼠胃肠动力及 VIP 和 CGRP 水平的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 03:360-364. DOI:10.7661/CJIM.2017.03.0360.
- [14] Nojkov B, Zhou SY, Dolan RD, et al. Evidence of duodenal epithelial

- barrier impairment and increased pyroptosis in patients with functional dyspepsia on confocal laser endomicroscopy and "Ex Vivo" mucosa analysis[J]. Am J Gastroenterol, 2020, 115(11): 1891-1901. DOI: 10.14309/ajg.0000000000000827.
- [15] Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. Nature, 2015, 526(7575): 660-665. DOI:10.1038/nature15514.
- [16] 吴震宇, 张声生, 李培彩, 等. 碘乙酰胺灌胃联合夹尾应激诱导大鼠 FD 模型的建立及评价[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2015, 23(7): 462-466. DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2015.07.04.
- [17] 郭义, 方剑乔. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 116.
- [18] 王丹, 潘小丽. 基于十二指肠异常探讨功能性消化不良的中医研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(3): 925-932.
- [19] 李丹, 李佳, 吴松. 电针“足三里”“内关”“太冲”穴对腹泻型肠易激综合征大鼠炎性反应相关物质的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(8): 238-241. DOI: 10.13192/j.issn.1000-1719.2021.08.068.
- [20] 潘小丽, 王计雨, 康朝霞, 等. 电针“足三里”对功能性消化不良模型大鼠胃窦 Cajal 间质细胞自噬的影响[J]. 中医杂志, 2019, 60(16): 1407-1411. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.16.013.
- [21] Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer[J]. Int Immunol, 2021, 33(3): 127-148. DOI: 10.1093/intimm/dxaa078.
- [22] Yu P, Zhang X, Liu N, et al. Pyroptosis: mechanisms and diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 128. DOI: 10.1038/s41392-021-00507-5.
- [23] Wang K, Sun Q, Zhong X, et al. Structural mechanism for GSDMD targeting by autoprocessed caspases in pyroptosis[J]. Cell, 2020, 180(5): 941-955. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.002.
- (修回日期: 2022-10-22)
(本文编辑: 阮仕衡)

· 特稿 ·

沉痛悼念本刊前总编辑南登崑教授

我国著名的康复医学专家、本刊第 5 届编委会总编辑及第 6, 7 届编委会顾问南登崑教授因病医治无效, 于 2022 年 12 月 21 日 7 时 50 分在武汉不幸逝世, 享年 96 岁。

南登崑教授是我国现代康复事业的先驱者及奠基人之一, 曾在引领本专业由理疗学和物理医学向现代康复医学转型及培训现代康复人才方面做出了不可替代的卓越贡献。在担任本刊总编辑和顾问期间, 南登崑教授为本刊建设倾注了大量心血。他一贯强调学术期刊的首要任务是起到正确的学科导向与学术引领作用, 强调学术质量是杂志的生命线, 总是提醒大家要时刻保持对国内外康复医学新理论、新技术及新的研究成果的敏锐性, 要随时跟踪、及时报道。他总是身体力行, 从编辑委员会建设到专家队伍的储备、作者队伍的联络与培养, 从杂志报道主题策划到栏目建设以及国内、外学术联系的拓展, 他都给予了具体指导甚至亲自参与谋划。南教授的办刊理念, 已成为我们办刊工作中的重要指导思想。

南登崑教授的不幸逝世, 是中国康复医学界、更是本刊的重大损失。我们将继承南教授的遗志, 勤勤恳恳、扎扎实实地办好杂志, 以优异的成绩告慰南教授在天之灵。

《中华物理医学与康复杂志》编辑委员会
《中华物理医学与康复杂志》编辑部