

DOI: 10.13703/j.0255-2930.2018.07.018

中图分类号: R 245.9⁷ 文献标志码: A

电针促进胃黏膜损伤修复的时效关系及分子机制*

张媛^{1,2△}, 刘彩春¹, 连林宇³, 沈佳成¹, 何其达³, 陈娇龙³, 马富强¹, 杨宗保¹✉(¹厦门大学医学院深圳研究院, 广东深圳 518000; ²湖南中医药大学针灸推拿学院, 长沙 410208; ³福建中医药大学)

[摘要] 目的: 动态观察电针对胃溃疡模型大鼠胃黏膜损伤修复的影响, 探讨电针治疗胃溃疡的时效关系和分子机制。方法: 72 只 SD 大鼠分为空白组、模型组、胃经穴组、对照点组, 并按干预时间 1、4、7 d 分为 3 个亚组, 每个亚组 6 只。采用乙醇灌胃方法制备胃溃疡大鼠模型, 胃经穴组电针“足三里”“梁门”, 对照点组电针“梁门”“足三里”外旁开 5 mm 处, 每日 1 次, 每次电针 30 min。空白组和模型组用鼠板束缚但不进行电针处理, 每日 1 次, 每次 30 min。用逆转录-聚合酶链反应 (PR-PCR) 法检测胃增殖细胞核抗原 (PCNA)、P 物质 (SP) 的表达, Western blot 检测胃神经降压素 (NT) 的表达。结果: 干预 1 d 后, 模型组溃疡指数显著高于空白组 ($P < 0.01$), PCNA、SP、NT 表达降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 胃经穴组与模型组、对照点组相比, 溃疡指数降低 (均 $P < 0.05$), 上调 PCNA mRNA、SP mRNA 的表达 (均 $P < 0.05$) 且显著上调 NT 蛋白表达 (均 $P < 0.01$)。干预 4 d 后, 模型组溃疡指数降低但仍高于空白组 ($P < 0.05$), PCNA mRNA、SP mRNA、NT 蛋白的表达上升且高于空白组 (均 $P < 0.01$); 胃经穴组溃疡指数接近空白组 ($P > 0.05$), PCNA mRNA、SP mRNA 低于模型组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), NT 蛋白与模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。干预 7 d 后, 各组以上指标组间比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。结论: 电针胃经穴能在胃溃疡发展的不同病理状态下对 PCNA mRNA、SP mRNA 进行双向调节的平衡作用同时促进 NT 蛋白高表达, 进而促进溃疡的修复。

[关键词] 胃溃疡; 电针; 时效关系; 穴, 足三里; 穴, 梁门; 增殖细胞核抗原; P 物质; 神经降压素

Time-effect relationship and molecular mechanism of electroacupuncture for repair of gastric mucosal lesion

ZHANG Yuan^{1,2△}, LIU Caichun¹, LIAN Linyu³, SHEN Jiacheng¹, HE Qida³, CHEN Jiaolong³, MA Fuqiang¹, YANG Zongbao¹✉ (¹Research Institute of Shenzhen, Medical College of Xiamen University, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China; ²College of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Hunan University of CM, Changsha 410208; ³Fujian University of TCM)

ABSTRACT Objective To dynamically observe the effects of electroacupuncture (EA) on repair of gastric mucosal lesion in rats with gastric ulcer, and to explore the time-effect relationship and molecular mechanism of EA for gastric ulcer.

Methods A total of 72 SD rats were randomly assigned to a normal group, a model group, a acupoint group and a sham acupoint group, and each group were further divided into a 1-day subgroup, a 4-day subgroup and a 7-day subgroup, 6 rats in each subgroup. The rat model of gastric ulcer was established by using intragastric administration of ethyl alcohol. The rats in the acupoint group were treated with EA at “Zusanli” (ST 36) and “Liangmen” (ST 21); the rats in the sham acupoint group were treated with EA at points 5 mm next to “Zusanli” (ST 36) and “Liangmen” (ST 21); the EA was given 30 min per treatment, once a day. The rats in the normal group and model group were treated with immobilization for 30 min per day, and no EA was given. PR-PCR method was applied to test the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and substance P (SP); Western blot method was applied to test the expression of neurotensin (NT). **Results** After 1-day treatment, the ulcer index in the model group was higher than that in the normal group ($P < 0.01$), and the expression of PCNA, SP and NT was decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$); compared with the model group and sham acupoint group, the ulcer index was decreased in the acupoint group (both $P < 0.05$), and the expression of PCNA and SP was up-regulated (all $P < 0.05$) while that of NT was up-regulated (both $P < 0.01$). After 4-day treatment, the ulcer index in the model group was reduced but still higher than that in the normal group ($P < 0.05$), and the expression of PCNA, SP and NT was up-regulated and higher than that in the normal group (all $P < 0.01$); the ulcer index in the acupoint group was similar to that in the normal group ($P > 0.05$), and the expression of PCNA and SP was lower than that in the model group ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and the expression of NT was not significantly different from that in the model group ($P > 0.05$). After 7-day treatment, the differences of indexes above were not significant among the four groups

*深圳市科技计划项目: JCYJ 20160406140612883; 国家自然科学基金项目: 81473751

✉通信作者: 杨宗保, 副教授。E-mail: yzbldq@163.com

△张媛, 湖南中医药大学硕士研究生。E-mail: zyzjzyj@163.com

(all $P > 0.05$). **Conclusion** EA at acupoints of stomach meridian has two-way regulation on PCNA and SP and improve the expression of NT in different pathological state of gastric ulcer, which could further improve the repair of gastric ulcer.

KEYWORDS gastric ulcer; electroacupuncture (EA); time-effect relationship; Point ST 36 (Zusanli); Point ST 21 (Liangmen); proliferating cell nuclear antigen (PCNA); substance P (SP); neurotensin(NT)

胃溃疡是以胃黏膜损伤形成溃疡灶或伴有穿孔出血等病变为主要表现的临床常见疾病,其发生过程十分复杂^[1]。目前认为胃黏膜防御机制受损是导致溃疡的重要因素之一,因此加强黏膜防御、促进黏膜细胞更新与修复等是治疗胃溃疡的关键^[2]。增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA), 是 DNA 复制和细胞增生的重要物质,常作为反映细胞增殖状态的内在指标^[3]。临床研究报道针灸对胃溃疡及溃疡复发有较好的疗效^[4-5],并发现其机制可能与 P 物质 (substance P, SP)、神经降压素 (neurotensin, NT) 有关^[6-7]。但是目前电针治疗胃溃疡的作用机制仍不清楚,并且电针治疗胃溃疡在时效方面的研究较少。因此,本实验通过电针“梁门”“足三里”,动态观察大鼠胃黏膜中 PCNA、SP 和 NT 的表达变化,从时间效应的角度探讨电针对胃溃疡的作用机制,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选用 SD 雄性大鼠 75 只,体质量 (200 ± 20) g,购自吴氏实验动物中心[动物合格证号: SCXK (浙) 160803004]。在厦门大学动物实验中心适应饲养 1 周后进行实验,饲养环境 SPF 级,室温控制在 (20 ± 2) °C,相对湿度为 65% ± 5%,自然光暗周期,给予大鼠充足的饮水和饲料,饲养器定期进行打扫消毒。从 75 只大鼠中随机选出 3 只作为预实验大鼠,另 72 只大鼠按随机数字表法分为 4 组:空白组、模型组、胃经穴组、对照点组,每组 18 只;每组再根据干预时间分为 1、4、7 d 3 个亚组,每个亚组 6 只。整个实验过程对动物的处置符合国家科技部 2006 年发布的《关于善待实验动物的指导性意见》的规定。

1.2 主要仪器及试剂

(1) 仪器:石蜡切片机 (RMB235, 德国莱卡 Leica 公司), 实时荧光定量热循环仪 (ABI7500, 美国 Applied Biosystems 应用生物系统), 智能生物显微镜 (BX53, 奥林巴斯 Olympus 公司); ABI 7500fast 荧光定量 PCR 仪 (Thermo Fisher 科技有限公司), 匀浆机 IKA T10 basic (德国 IKA 公司), M200 PRO 酶标仪 (瑞士 TECAN 集团公司), Mimi-RPOTEN Tetra System 电泳系统 (美国 BIO-RAD 公司), Centrifuge

5418R 低温高速离心机 (Eppendorf 中国有限公司), 显影系统 Tanon 5200s (上海天能科技有限公司), 电针治疗仪 (G6805-2 型, 上海医疗器械高技术公司), 一次性无菌针灸针 (汉医牌 0.25 mm × 25 mm, 长春爱康医疗器械有限公司)。

(2) 试剂:塔卡拉总核糖核酸提取液 (TaKaRa RNAiso Plus Total RNA) 提取试剂和互补脱氧核糖核酸 (cDNA) 逆转录试剂 (宝日医生物技术有限公司), SYBRGreen 试剂盒 (荧光定量 PCR, Roche 生物技术公司), PCR 引物设计及合成 (上海生工生物工程股份有限公司), NT 一抗、二抗 (圣克鲁斯 (上海) 生物技术公司), β-action (β 肌动蛋白) 抗体、RIPA 裂解液和超敏 ECL 化学发光试剂盒 (碧云天生物技术公司)。

1.3 模型制备

除空白组外其余各组及预实验大鼠建立胃黏膜损伤模型。采用乙醇灌胃的方法^[8],造模前先将大鼠禁食、不禁水 24~48 h,用灌胃针将 75%乙醇从口腔灌胃,4 mL/kg,3 h 后恢复大鼠自由饮食。造模 12 h 后将预实验大鼠断头处死,摘出全胃,肉眼观察胃腔,可见黏膜呈潮红充血状态,或胃体数处出现斑点状溃烂,病理检测可见黏膜缺损,有炎性细胞浸润、上皮细胞坏死等,说明模型复制成功。

1.4 干预方法

造模次日进行实验干预,空白组和模型组大鼠用鼠板捆绑固定 30 min,每日 1 次,不给予其他处理。胃经穴组和对照点组大鼠用鼠板捆绑固定,根据前期临床报道和实验研究^[5,9]结果以及模拟人体经络穴位的大鼠穴位定位法^[10],胃经穴组选择“梁门”(腹正中线与乳头线之间的中点,脐上约 20 mm)、“足三里”(大鼠膝关节后外侧,在腓骨小头下约 5 mm 处)。对照点组选择“梁门”“足三里”外旁开 5 mm 处。采用 0.25 mm × 25 mm 针灸针直刺进针,深度约 5 mm,连接电针治疗仪,输出线接胃经穴组大鼠同侧“梁门”(正极)与“足三里”(负极);对照点组大鼠电针接同侧“梁门”对照点(正极)、“足三里”对照点(负极)。每只大鼠接两组线,波型为疏密波,4 Hz/20 Hz,脉冲宽度 0.5 ms,疏波时间 5 s,密波时间 10 s,输出

电压 2~4 V, 电流 4~6 mA, 以针灸针轻微颤抖为度, 每次 30 min, 每日 1 次。3 个亚组分别干预 1、4、7 d。

1.5 标本采集

各亚组在干预 1、4、7 d 后予大鼠断头处死, 解剖摘取全胃, 沿胃底将胃腔剪开, 暴露胃内侧面, 用 0.9%NaCl 溶液冲洗, 肉眼观察胃黏膜损伤情况, 用一次性刀片迅速切取胃黏膜损伤部位, 整个过程在冰上操作。胃黏膜组织平均分为 3 份, 一份放入 4%的多聚甲醛固定 48~72 h, 石蜡包埋切片, 进行 HE 染色; 余两份迅速放置于液氮冻存 1 h 后移入 -80 °C 冰箱, 分别进行实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 和 Western blot 检测。

1.6 指标检测

(1) 胃溃疡指数

胃溃疡指数标准根据 Guth 等^[11]制定的计算方法: 斑点糜烂计 1 分; 糜烂长度 < 1 mm 计 2 分; 糜烂长度 1~2 mm 计 3 分; 糜烂长度 > 2 mm 且 ≤ 4 mm 计 4 分; 糜烂长度 > 4 mm 计 5 分; 宽度 > 1 mm 时, 分值 × 2。溃疡指数=胃黏膜各处糜烂的计分之和。

(2) HE 染色观察胃黏膜组织形态

胃黏膜组织固定后, 经流水冲洗, 梯度乙醇溶液脱水后进行常规石蜡包埋, 二甲苯透明, 切片。HE 染色: 用二甲苯脱蜡, 无水乙醇、95%乙醇、85%乙醇、75%乙醇的梯度顺序进行脱水, 水冲洗。苏木素染色 7 min, 伊红染色 1 min, 随后冲片、干燥, 于 400 倍显微镜下观察胃黏膜组织形态变化并采集图片。

(3) 实时荧光定量 PCR 检测 PCNA、SP

将胃组织研磨成粉末后取 50 mg, 用总 RNA 抽提试剂 (TRIZOL 试剂) 充分裂解组织, 按照常规方法进行总 RNA 提取, 之后进行 RNA 浓度测定, 取 2 μL RNA 进行逆转录, 总体积为 10 μL, 制备 cDNA 模板。再按照试剂盒说明书进行 PCNA mRNA、SP mRNA 的 RT-PCR 检测, 以磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 为内部参照基因, 引物序列见表 1, 采用两步法进行 PCR 扩增。反应测定 PCNA mRNA、SP mRNA 表达的 Ct 值, 将所获得目的基因 Ct 值减去参照基因 Ct 值, 得到 ΔCt 后采用公认的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法^[12]对 ΔCt 值进行 mRNA 相对表达量分析。

(4) Western blot 检测 NT 蛋白

把组织剪切成细小碎片, 裂解组织细胞参照碧云天公司 RIPA 裂解液方法进行蛋白提取、浓度定量、配制溶液、配胶。取 20 μg 总蛋白进行电泳、转膜。于封闭液 (5%脱脂奶粉) 中室温封闭 2 h, 加入一抗

表 1 PCNA、SP 和 GAPDHmRNA 引物序列

基因名称	引物序列 (5'-3')	产物长度/bp
PCNA F	TGCTGTGGTGATCTCCTGTGC	140
PCNA R	CTGGCTCATTTCATCTCTATGGACAC	
SP F	CCGACAGTGACCAAATCAAGGAG	59
SP R	TCTCTGAAGAAGATGCTCAAAGGG	
GAPDH F	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG	121
GAPDH R	CATACTCAGCACCAGCATCAC	

注: F: Forward primer (正向引物); R: Reversed primer (反向) 引物。

(1 : 1000), 4 °C 孵育过夜, 结束后用三羟甲基氨基甲烷-氯化氢缓冲液加聚山梨酯 (TBS+Tween, TBST) 洗 3 遍。加入二抗 (1 : 10 000), 室温孵育 1 h, 结束后用 TBST 洗 3 遍左右。采用化学发光法进行显影拍照, 杂交信号使用 National Institutes of Health 图像分析系统 ImageJ 进行灰度值分析。

1.7 统计学处理

采用 IBM SPSS Statistics 21 统计软件进行分析, 数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 进行多组间分析, 符合正态性分布, 方差齐采用 LSD 法, 方差不齐采用 Games-Howell 法进行分析和两两比较; 不符合正态分布采用 Kruskal-Wallis Test 分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠胃溃疡指数比较

干预 1 d 后, 模型组、胃经穴组及对照点组大鼠胃溃疡指数皆高于空白组 (均 $P < 0.01$), 但胃经穴组溃疡指数低于模型组和对照点组 (均 $P < 0.05$); 干预 4 d 后, 模型组和对照点组溃疡指数有所降低但仍高于空白组 (均 $P < 0.05$), 而胃经穴组溃疡指数低于模型组和对照点组 (均 $P < 0.05$); 干预 7 d 后, 各组溃疡指数基本恢复正常水平, 组间比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠胃黏膜溃疡指数比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	干预 1 d (n=6)	干预 4 d (n=6)	干预 7 d (n=6)
空白组	0.13 ± 0.35	0.50 ± 0.76	0.62 ± 0.74
模型组	25.75 ± 3.61 ²⁾	13.88 ± 4.01 ¹⁾	1.88 ± 1.96
胃经穴组	19.88 ± 4.29 ²⁾³⁾⁴⁾	2.63 ± 2.83 ³⁾⁴⁾	1.13 ± 1.26
对照点组	24.38 ± 2.26 ²⁾	14.25 ± 3.05 ¹⁾	2.63 ± 2.62

注: 与空白组同时时间点比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组同时时间点比较, ³⁾ $P < 0.05$; 与对照点组同时时间点比较, ⁴⁾ $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠胃黏膜组织形态学比较

光镜下空白组大鼠胃黏膜上皮结构完整, 腺体排列整齐, 未见炎性细胞浸润。模型组和对照点组在干预 1 d 后, 大鼠胃黏膜上皮结构破坏严重, 大量细胞坏死脱落, 黏膜细胞稀疏甚至出现空洞, 腺体排列紊

乱,细胞内见水肿,胞核胞质模糊,大量炎性细胞浸润,毛细血管增生及出血;而胃经穴组大鼠胃黏膜上皮结构破坏程度较轻微,黏膜细胞结构较松散,细胞间隙仍存在少量红细胞和炎性细胞。干预 4 d 后,模型组和对照点组黏膜层结构稀疏,细胞排列无序,仍有炎性细胞浸润,毛细血管增生及出血;胃经穴组胃黏膜上皮结构及黏膜细胞有所恢复,可见少量炎性细胞和红细胞,无明显毛细血管增生。干预 7 d 后,模型组、胃经穴组和对照点组胃黏膜层细胞结构较为完整,血管形态恢复正常,偶见炎性细胞。见图 1。

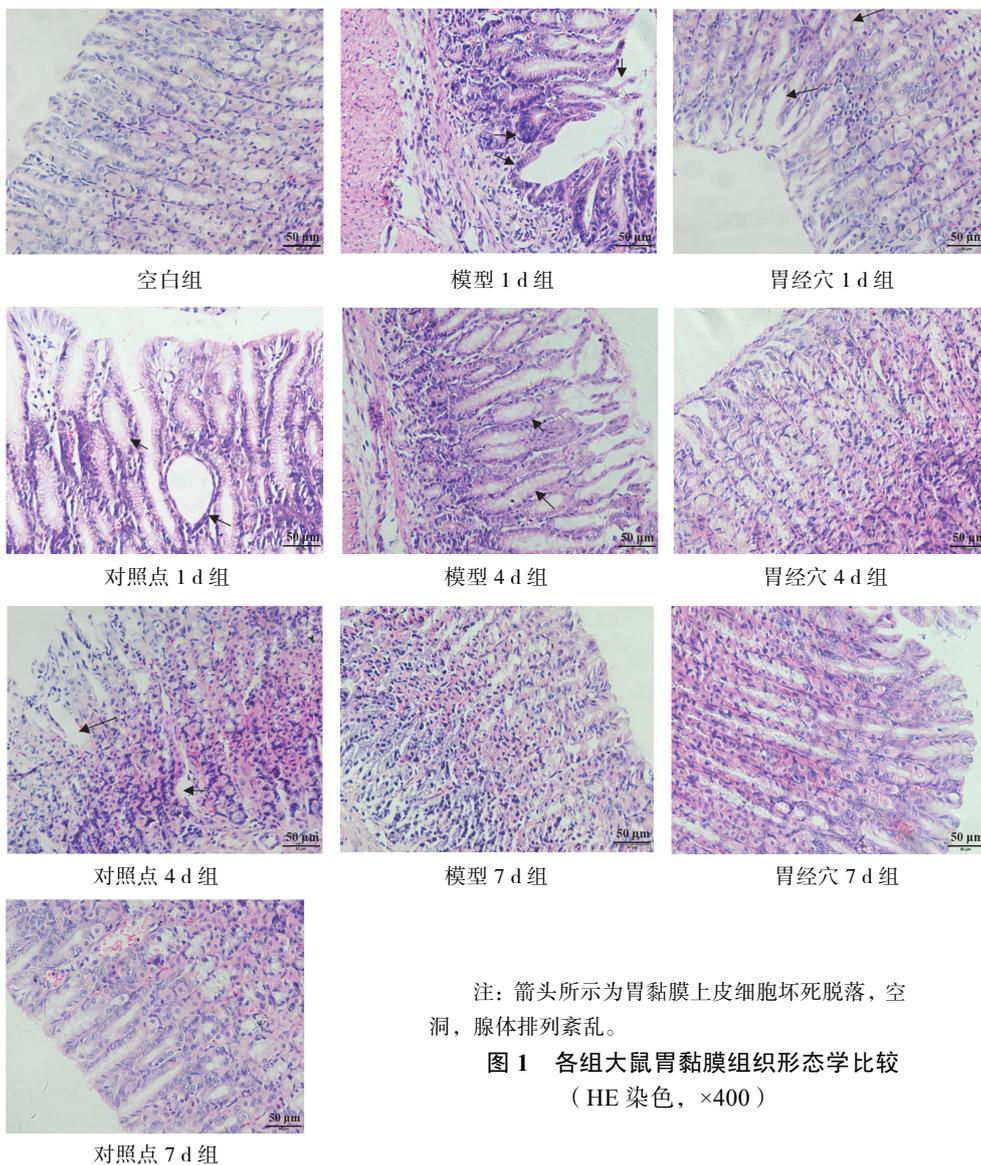
2.3 各组大鼠胃黏膜 PCNA mRNA、SP mRNA 的表达比较

模型组、胃经穴组和对照点组在干预 1 d 后与空白组相比,胃黏膜 PCNA mRNA、SP mRNA 表达量均明显降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),但胃经穴组的表达高于模型组和对照点组 (均 $P < 0.05$)。干预 4 d

后,模型组、对照点组 PCNA mRNA、SP mRNA 表达上升并显著高于空白组 (均 $P < 0.01$);胃经穴组 SP mRNA 表达亦增加但低于模型组和对照点组 (均 $P < 0.05$);而胃经穴组 PCNA mRNA 表达显著低于模型组、对照点组 (均 $P < 0.01$)并接近空白组 ($P > 0.05$);干预 7 d 后,各组 PCNA mRNA、SP mRNA 表达比较差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。见图 2。

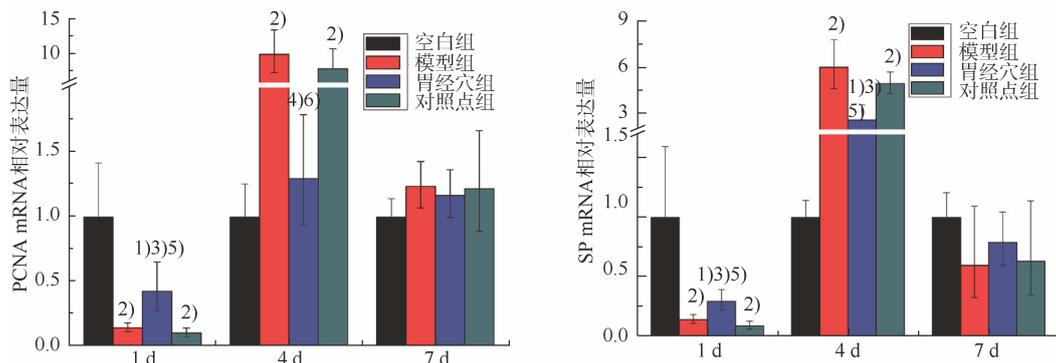
2.4 各组大鼠胃黏膜 NT 蛋白的表达比较

在干预 1 d 后,模型组胃黏膜 NT 表达低于空白组、对照点组 (均 $P < 0.05$);胃经穴组 NT 蛋白表达显著高于空白组、模型组和对照点组 (均 $P < 0.01$)。干预 4 d 后,模型组、胃经穴组和对照点组 NT 蛋白表达差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$),且皆高于空白组 (均 $P < 0.01$)。干预 7 d 后,各组间比较差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$),见图 3。



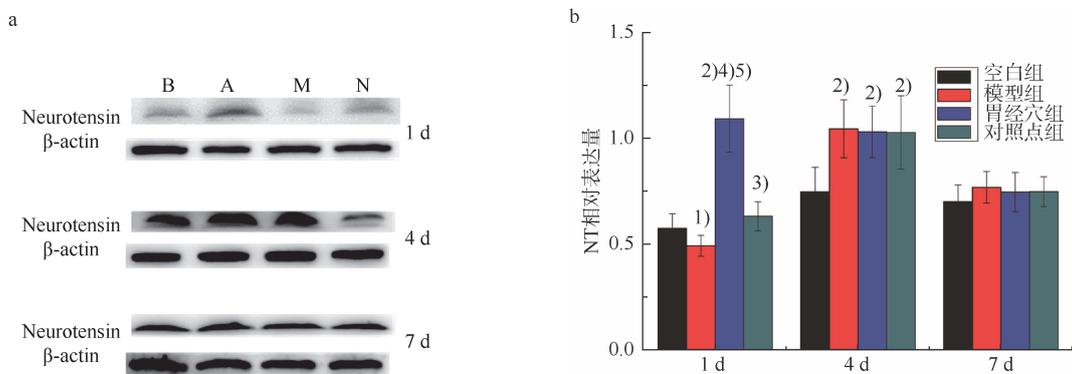
注:箭头所示为胃黏膜上皮细胞坏死脱落,空洞,腺体排列紊乱。

图 1 各组大鼠胃黏膜组织形态学比较 (HE 染色, ×400)



注：采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法转换 Ct 值分析，以空白组为对照组，其他组相对于空白组 mRNA 表达量的倍数关系。与空白组同时间点比较，¹⁾ $P < 0.05$ ，²⁾ $P < 0.01$ ；与模型组同时间点比较，³⁾ $P < 0.05$ ，⁴⁾ $P < 0.01$ ；与对照点组同时间点比较，⁵⁾ $P < 0.05$ ，⁶⁾ $P < 0.01$ 。

图 2 各组大鼠干预后胃黏膜 PCNA mRNA 和 SP mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$, 6 只鼠/组)



注：图 a 中，N：空白组；M：模型组；A：胃经穴组；B：对照点组。图 b 中，与空白组同时间点比较，¹⁾ $P < 0.05$ ，²⁾ $P < 0.01$ ；与模型组同时间点比较，³⁾ $P < 0.05$ ，⁴⁾ $P < 0.01$ ；与对照点组同时间点比较，⁵⁾ $P < 0.01$ 。

图 3 各组大鼠干预后胃黏膜 NT 蛋白的表达量比较 ($\bar{x} \pm s$, 6 只鼠/组)

3 讨论

胃溃疡属于中医“胃脘痛”范畴，经络理论中胃经与胃腑相属，主治肠胃等消化系统疾病。足三里为胃经的合穴、胃腑下合穴，《灵枢·邪气脏腑病形》言“合治内腑”“胃病者，腹腹胀，胃脘当心而痛，上支两胁，膈咽不通，饮食不下，取之三里也。”故常用于治疗胃腑疾病。梁门同为胃经腧穴，位于胃脘部，“经脉所过，主治所及”，常与足三里配伍治疗肠胃疾患，具有调理脾胃、补中益气、扶正祛邪的作用。既往研究^[59]显示，针刺“梁门”“足三里”对胃肠功能有明显的改善作用。本研究模型组干预 1、4、7 d 的溃疡指数呈降低趋势，结合病理图片说明急性胃溃疡具有一定自愈能力。胃经穴组与模型组、对照点组的对比结果，说明电针“梁门”“足三里”能促进溃疡的愈合且具有穴位特异效应。

溃疡的形成和发展是一个动态的过程，涉及多种机制的相互作用。目前认为胃溃疡的形成主要是胃黏膜保护机制与胃酸、胃蛋白酶的分泌之间的平衡被破坏，其中胃黏膜保护机制包括细胞增殖与修复能力^[13]。PCNA 作为 DNA 聚合酶的辅助蛋白直接参与细胞的

增殖^[3]。在各种损伤中 PCNA 常存在下降现象，而损伤恢复期伴随该指标的增加。前期研究^[14]发现黏膜损伤处 PCNA 表达降低延迟细胞的修复，而溃疡修复时细胞增殖活动也明显加强。但长期过度的 PCNA 表达，会导致胃黏膜细胞的异常增生^[15]。本实验显示模型组干预 1 d 后 PCNA 表达低于空白组，电针可促进其表达；干预 4 d 后模型组表达远高于空白组，而胃经穴组反而抑制其表达，结合胃黏膜溃疡指数结果，说明 PCNA 过高过低表达都可能会影响胃黏膜的修复，电针胃经穴可双向调节 PCNA 的表达水平。

SP 是胃肠道内一种重要的肽能神经元，参与胃肠动力调节，可加强胃肠平滑肌和括约肌的收缩，促进胃肠蠕动和胃排空^[16-17]。有研究^[17]发现溃疡的形成与 SP 减少，导致胃排空作用减弱，使胃酸在胃部停留的时间相对延长进而对胃壁消化作用增加有关。此外 SP 还参与炎症反应和内脏疼痛反射^[18-19]，可进一步促进溃疡的修复。因此 SP 在溃疡的发生发展中存在复杂的影响。本实验显示与同时间点模型组相比，电针胃经穴 1 d 后可促进 SP 表达而干预 4 d 后反而抑制其表达。结合病理结果提示，电针胃经穴促进

黏膜修复可能与早期通过促进 SP 表达进而加强胃排空、减少有害物质对黏膜的损伤, 以及抑制当 SP 过度表达产生的炎性反应等对黏膜修复的影响有关。NT 也是一种肽类物质, 主要分布于胃肠道 (85%), 少量存在于下丘脑, 参与胃肠道多种生物反应^[20]。目前研究报道 NT 可通过迷走神经抑制胃酸分泌, 促进胃肠黏膜上皮生长, 对胃黏膜有保护作用^[21-22]。本实验结果中, 干预 1 d 后, 电针胃经穴可显著升高 NT 的表达水平, 说明电针胃经穴可通过早期促进 NT 高表达进而促进胃黏膜修复。

本研究结果显示, 在溃疡损伤初期 PCNA、SP、NT 表达降低。胃黏膜 SP 低表达导致胃排空作用减弱, 胃酸在胃腔内停留时间延长; NT 的低表达使对抑制胃酸分泌的调节作用减弱, 使胃酸对胃壁的刺激增强; PCNA 表达降低导致细胞增殖减少, 使胃黏膜屏障受到胃酸伤害后, 胃壁损伤的黏膜细胞不能及时有新细胞进行替换修复, 从而导致溃疡的形成。随着溃疡的发生, 损伤部刺激胃壁神经大量释放 SP, 产生疼痛感, 而 SP 能促进肥大细胞脱颗粒释放炎性介质进一步影响溃疡的修复。在溃疡 4 d 时, 溃疡大鼠胃黏膜 NT 和 PCNA 呈过度阳性表达, 使抑制胃酸的分泌增强、细胞增殖能力活跃, 提示大鼠胃黏膜损伤后有一定自行调节愈合修复的能力。PCNA 表达升高可能与 NT 表达增加促进胃肠黏膜上皮细胞生长有关。电针胃经穴 1 d 后, 可改善 PCNA、SP 的低表达水平并促进 NT 高表达进而减轻三者表达降低导致的溃疡发生程度。电针胃经穴 4 d 后, 可抑制 SP 过度表达引起的炎性反应, 从而进一步促进溃疡的修复。此外电针胃经穴 4 d 时抑制 PCNA 的过度表达, 这可能会对防止胃黏膜细胞发生异型增殖有一定意义。

总之, 溃疡的发生发展涉及多种物质的参与, 其过程十分复杂, 而电针在胃溃疡发展的不同病理状态下对 PCNA、SP、NT 调节和平衡作用可对电针治疗胃溃疡的机制提供新的思路。

参考文献

[1] Xie M, Chen HH, Nie SP, et al. Gastroprotective effect of gamma-aminobutyric acid against ethanol-induced gastric mucosal injury[J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 272: 125-134.
 [2] 孙玉鹤, 张春风. 胃溃疡研究进展[J]. *亚太传统医药*, 2014, 10(11): 46-49.
 [3] Strzalka W, Ziemienowicz A. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a key factor in DNA replication and cell cycle regulation[J]. *Ann Bot*, 2011, 107(7): 1127-1140.
 [4] 孙茂峰, 王茵萍, 林昭庚, 等. 针灸保护胃黏膜临床与实验研究进展[J]. *中国针灸*, 2000, 20(7): 57-61.

[5] 刘密, 常小荣, 严洁, 等. 艾灸预处理对大鼠应激性胃黏膜损伤增殖修复相关因子的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2012, 20(1): 53-59.
 [6] 邓雪, 任路, 李静, 等. 电针“肝俞”穴对抑郁型胃溃疡大鼠胃窦黏膜、下丘脑组织 P 物质和海马 5-羟色胺的影响[J]. *针刺研究*, 2014, 39(2): 124-129.
 [7] 杨云, 徐派的, 辛玉, 等. 电针对功能性消化不良大鼠胃排空功能及 NT 的影响[J]. *湖北中医杂志*, 2015, 37(9): 1-3.
 [8] Pradeepkumar Singh L, Kundu P, Ganguly K, et al. Novel role of famotidine in downregulation of matrix metalloproteinase-9 during protection of ethanol-induced acute gastric ulcer[J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43(2): 289-299.
 [9] 杨宗保, 王亚东, 董继扬, 等. 电针胃经穴对胃溃疡模型大鼠血清和尿液代谢轮廓的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(10): 4180-4183.
 [10] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 314-319.
 [11] Guth PH, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat. Cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine[J]. *Gastroenterology*, 1979, 76(1): 88-93.
 [12] Kim ST, Chun JW, Park G, et al. Comparative quantification of plasma TDRD7 mRNA in cataract patients by real-time polymerase chain reaction[J]. *Korean J Ophthalmol*, 2014, 28(4): 343-50.
 [13] Lanás A, Chan F. Peptic ulcer disease[J]. *Lancet*, 2017, 390(10094): 613-624.
 [14] 刘晨晨, 樊叶, 关月, 等. 替格瑞洛对大鼠胃溃疡愈合的影响及其机制研究[J]. *胃肠病学*, 2016, 21(7): 404-408.
 [15] 谢宇锋, 陈赓, 冯军, 等. 御寒暖胃膏穴位贴敷对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜 TNF- α 、PCNA 的影响[J]. *新中医*, 2016, 48(5): 300-304.
 [16] 孙锦平, 王路宁, 柳国芳, 等. 针刺足三里穴对冷应激性胃溃疡大鼠下丘脑与肾上腺 SP 和 POMC 表达的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(15): 1602-1606.
 [17] 马娟, 王宇彬, 李洪利, 等. P 物质在胃溃疡中的表达及意义[J]. *中国医药导报*, 2009, 6(24): 26-27.
 [18] 赵倩, 王长谦, 乔建瓯, 等. 硫化氢通过 P 物质介导促进小鼠肺组织的神经源性炎症反应[J]. *中国临床医学*, 2015, 22(3): 262-267.
 [19] 陈彦强, 王永平, 杨同群, 等. 肉毒毒素 A 对大鼠慢性神经源性疼痛中 P 物质和炎症反应的影响[J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(11): 1517-1524.
 [20] 何泉, 周国华. 神经降压素对肠道黏膜屏障影响的研究进展[J]. *医学综述*, 2016, 22(4): 650-653.
 [21] Di FP, He Y, Koenig M, et al. The discovery of indole full agonists of the neurotensin receptor 1 (NTSR1)[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(16): 3974-3978.
 [22] Li J, Song J, Cassidy MG, et al. PI3K p110 α /Akt signaling negatively regulates secretion of the intestinal peptide neurotensin through interference of granule transport[J]. *Mol Endocrinol*, 2012, 26(8): 1380-1393.

(收稿日期: 2017-12-27, 编辑: 杨立丽)