

(M)

ISSN 1005-0779  
CN23-1354/R

# 针灸临床杂志

2000年 第16卷 第12期

JOURNAL OF CLINICAL ACUPUNCTURE AND MOXIBUSTION

## 目次

### ◆名医经验◆

靳三针疗法的形成与特点 ..... 彭增福 (1)

### ◆临床报道◆

肌松消炎法治疗腰椎间盘突出症 130 例疗效观察 ..... 程丽萍 王伟氏 (3)

针刺治疗排卵期出血 ..... 董莉 肖丽 (5)

综合疗法治疗周围性面神经麻痹的临床体会 ..... 张利兵 原鲜棠 (6)

针药并用治疗皮肤瘙痒症的体会 ..... 王丽敏 (7)

针刺治疗胃癌腹痛临床观察 ..... 李凌 (9)

针推综合治疗腰椎间盘突出侧凸 8 例 ..... 鹿振 曹雨 (10)

中药配合耳穴压籽治疗药物流产后阴道出血 30 例 ..... 李秀霞 (11)

综合治疗腰椎间盘突出症 38 例 ..... 冯跃国 (12)

针刺及穴注治疗高寒地区颈椎病 305 例疗效观察 ..... 王津慧 (13)

针药并施缓解痛风性关节炎急性发作 34 例 ..... 计秀菊 刘毅 (15)

诊察血络及刺络放血法在痛症中的应用 ..... 黄月莲 (16)

### ◆特种针法◆

电针治疗血管性痴呆临床疗效观察 ..... 陈振虎 江钢辉 赖新生 (18)

头皮针为主治疗老年舞蹈病 1 例 ..... 段福明 黄红勤 段瑞勤 (20)

耳针、体针加电针治疗腰椎间盘突出症 62 例 ..... 朱菊妹 (21)

眼针为主治疗中风偏瘫 156 例 ..... 申延安 刘海胜 马成福等 (22)

三棱针点刺治疗痛风 30 例 ..... 侯雅慧 (23)

ISSN 1005-0779

电针颈夹脊穴配合中药离子导入治疗颈椎病 264 例 ..... 吴焱 (24)

手指针为主治疗顽固性失眠 219 例 ..... 姜华 董玉臣 金海燕等 (25)

腰突症的影像学表现与小针刀治疗观察 ..... 吴增军 寇状玲 梁万军 (26)

### ◆俞穴应用◆

天宗穴水针治疗四边孔综合征 15 例 ..... 徐灵聪 (28)

少商穴点刺放血治疗急性咽炎 30 例 ..... 张军 章曦 (29)

足三里穴在临床中的运用 ..... 周海波 (30)

耳穴压豆治疗黄褐斑疗效观察 ..... 张晓静 张成勤 (31)

### ◆实验研究◆

艾灸足三里穴影响空腹猫胃运动的实验研究 ..... 孙世晓 曹艳 李树学 (32)

耳针与血管性痴呆大鼠记忆障碍及 c-fos 表达的关系 ..... 张雪朝 肖茂磊 孙国杰 (34)

### ◆针苑百花◆

口眼歪斜针灸治疗的几大关键 ..... 王亚玲 (36)

冲刺法发挥 ..... 张新艺 (38)

耳穴染色诊断法在放射科临床上的运用 ..... 王吉根 中华军 (39)

### ◆文献综述◆

颈椎病针灸治疗近况 ..... 张丽 张唐法 (40)

针灸治疗高血压病的机理研究近况 ..... 睢久红 肖达 (43)

2000 年《针灸临床杂志》总目次 ..... (46)



主办单位：黑龙江中医药大学

# 耳针与血管性痴呆大鼠记忆障碍 及 c-fos 表达的关系\*

(430061) 湖北中医学院 张雪朝

(200031) 中国科学院上海生理研究所 肖茂磊

(430061) 湖北中医学院 孙国杰

**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及其与 c-fos 蛋白表达的关系。方法:采用 4-血管阻断全脑缺血再灌注制备 VD 大鼠模型,针刺脑、肾耳穴后,作免疫组化、行为学检测、图像分析。结果:治疗后 VD 大鼠海马 CA<sub>1</sub>区 c-fos 蛋白表达增加,与学习记忆成绩呈正相关。结论:耳针改善 VD 大鼠学习记忆,可能与针刺加强 c-fos 蛋白的表达,保护缺血后海马神经元的作用有关。

**关键词** 耳针 血管性痴呆 学习记忆 c-fos 海马

随着社会人口老龄化,血管性痴呆(Vascular Dementia, VD)的发病逐年增加。鉴于 c-fos 基因参与信息传递、学习记忆等生理和病理过程,并与缺血的发病机理有密切关系<sup>[1,2]</sup>,但目前尚缺乏耳针治疗 VD 大鼠学习记忆障碍及与 c-fos 表达关系的资料。为发挥耳针安全、无副作用,易于推广的优势,探索 VD 的非药物疗法的新途径。本实验选用改善的 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<sup>[3]</sup>,采用免疫组化、图像分析、Y-型迷宫,研究 VD 大鼠耳针治疗后学习记忆以及海马 CA<sub>1</sub>区 c-fos 蛋白表达的改变,旨在探讨 VD 发病及耳针治疗的可能机制,为临床治疗提供理论依据。

## 1 材料与方 法

Wistar 大鼠,雄性,200~250 克,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。大鼠由本院动物中心提供。

**1.1 模型制备及耳针治疗** 用水合氯醛(0.5ml/100g 体重)腹腔麻醉大鼠,背侧正中切口,用电凝针经第一颈椎横突翼小孔,烧灼双侧椎动脉。腹侧正中切

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。4-VO 成功的检验指标 4 条血管阻断成功 2~3 分钟内,EEG 呈等位线;翻正反射消失。根据华兴帮提供的方法<sup>[4]</sup>,定位大鼠脑、肾两耳穴。模型制备成功后,即进行耳针治疗,每天 1 次,治疗 15 天。

**1.2 学习记忆测试** 用 Stanes 三等臂 Y-型迷宫箱测试大鼠学习记忆,学习记忆成绩分别以其测试达到连续 10 次中有 9 次正确反映时所需的电击次数表示。

**1.3 免疫组织化学染色** 常规麻醉、灌注、固定、取材、冰冻切片,厚 30 $\mu$ m。免疫组化染色试剂盒说明进行。兔抗鼠 c-fos 抗体(工作浓度 1:500)、DAB 购于北京中山公司,免疫组化试剂盒(HABC)购于武汉博士德。

**1.4 图像分析及统计学处理** 用 MIAS-200 显微图像分析仪对阳性细胞进行图像分析。数据采用均数 $\pm$ 标准差(X $\pm$ SD)表示,组间均数比较采用单因素以方差分析。

## 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( $P < 0.01$ ),表示学习记忆出现明显的障碍;耳针治疗组所需电击次数较 VD 模型

组减少( $P < 0.01$ ),表示学习记忆障碍得到改善,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

组别	对照组	模型组	耳针治疗组
术前	5.68 ± 1.29	6.07 ± 1.67	5.62 ± 1.78
术后	5.81 ± 1.51	18.06 ± 2.68*	8.17 ± 1.81#

注:每组大鼠均为 10 只, \* $P < 0.01$ (与对照组比较), # $P < 0.01$ (与模型组比较)。

2.2 免疫组织化学染色结果 对照组,大鼠海马 CA<sub>1</sub>区有少量 c-fos 神经元表达,染色较淡;VD 模型组,上述脑区阳性神经元染色稍深,但数量仍然不多;耳针治疗组,上述脑区阳性细胞明显增加,着

色增深。以上三组, c-fos 免疫阳性产物在胞浆、胞核均可见到,且 c-fos 神经元主要分布在锥体细胞层,在分子层和多形细胞层也有散在分布,针刺后变化主要发生在锥体细胞层。阳性细胞相对光密度见表 2。

表 2 大鼠海马 CA<sub>1</sub>区 c-fos 免疫反应阳性细胞相对光密度值( $X \pm SD$ )测定结果

组别	VD 模型组	耳针治疗组
CA <sub>1</sub> 区	1472.16 ± 297.21	12253.45 ± 950.96*

\* 与 VD 模型组相比,有显著差异。 $P < 0.001$

### 3 讨论

VD 是以脑血管疾病引起的记忆障碍为主要表现的一种病症。中医将其归属到“健忘”、“呆痴”等症范畴,认为肾虚髓空是其根本。《内经》云:“耳为宗脉之所聚”,十二经脉均上于耳,针刺耳穴可调节全身脏腑器官的病症。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,耳针可改善脑血流<sup>[5]</sup>。另有实验证明,针刺保护脑缺血后海马神经元与 c-fos 表达增高有关<sup>[6]</sup>。本实验选用脑、肾耳穴治疗 VD 大鼠,实验结果显示,耳针脑、肾有效改善 VD 大鼠的学习记忆。

近年临床研究表明,脑反复缺血是 VD 发病的主要病因。海马是目前研究 VD 最多的结构,它既是缺血损伤敏感脑区,又是学习记忆的相关脑区<sup>[7]</sup>。有实验证实,单纯的全脑缺血刺激能够诱导 c-fos 原癌基因产物 Fos 在海马 CA<sub>1</sub>区内有表达增高,认为 Fos 具有对缺血损伤后神经元的保护修复,促进

再生和重塑功能有关<sup>[8]</sup>。本实验结果表明,VD 大鼠海马 CA<sub>1</sub>区有少量 c-fos 阳性细胞,耳针治疗后 c-fos 在海马 CA<sub>1</sub>区内表达明显增高,提示耳针治疗后 c-fos 表达增高可能是 Fos 作为细胞核的第三信使,启动和调控某些具有特殊功能意义的靶基因的表达,并通过最终产物发挥对缺血损伤后的海马神经元起着保护作用。有人通过研究 c-fos 与大鼠 LTP、LTD、NMDA 受体以及行为学的关系,证实海马 c-fos 的表达在大鼠学习记忆中起着重要的作用<sup>[9]</sup>。利用反义核酸技术抑制脑内 c-fos 的表达,发现 c-fos 对大鼠 Y 迷宫的学习行为没有影响,但大鼠分辨记忆的保持能力却明显减弱,证实转录因子 c-fos 与长期记忆有关<sup>[10]</sup>。本实验发现,针刺脑、肾耳穴后,缺血敏感脑区 CA<sub>1</sub>区 c-fos 蛋白表达明显加强,与 Y-型迷宫学习记忆成绩呈正相关,提示 c-fos 可能作为一个信号传导因子通过 NMDA 受体连接到海马神经元的基因中,最终在神经元中

产生永久性的修饰作用,为学习记忆提供物质基础。

综上所述,我们推测针刺脑、肾耳穴后,可能与针刺加强 c-fos 蛋白在海马 CA<sub>1</sub>区的表达, Fos 作为细胞核的第三信使,启动和调控某些与学习记忆功能相关的基因,如抑制神经元凋亡基因 Bcl-2、自由基 NO 和 CO 的合成酶以及 Ach 合成酶 Chat 等基因,并通过这些产物对 VD 大鼠学习记忆障碍发挥作用,因而改善了 VD 大鼠学习记忆的障碍。另外耳针加强 c-fos 蛋白在海马 CA<sub>1</sub>区的表达,可能通过 NMDA 受体连接到海马神经元的基因中,最终在神经元中产生永久性的修饰作用,为学习记忆提供物质基础,进而改善了 VD 大鼠学习记忆的障碍。至于,针刺引起 c-fos 蛋白表达增高的机制尚不清楚,有待进一步研究。

#### 4 参考文献

- 1 Macara IG. Oncogenes and cellular signal transduction. *Physiol Reviews*, 1989, 69:797
- 2 Nowark J T, Ikeda J, Nakejiam T. 70-k Da heat shock protein and c-fos gene expression after transient ischemia. *Stroke*, 1990, 111(suppl):107
- 3 Pulsinelli W A, Brierley J B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanaesthetized rat. *Stroke*

1979, 10:267-271

- 4 华兴帮,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
- 5 陈峰,戴晴,杨易平,等.耳穴神门对脑动脉硬化症患者椎-基底动脉血即时作用观察. *中国针灸*,1997, 12:717
- 6 应赛霞,程介士. c-fos 蛋白在沙鼠全脑缺血后再灌注时海马中的表达及其与电针抗缺血关系的探讨. *上海医科大学学报*,1994,21(4):311-313
- 7 苗建亭,游国雄,王者晋. 血管性痴呆大鼠记忆障碍与海马胆碱能神经元关系的研究. *中华老年医学杂志*, 1997,16(6):327
- 8 谢瑶,罗丕福,姚志彬,等. 全脑暂时性缺血诱导原癌基因蛋白(Fos)在大鼠海马结构表达的特征. *解剖学杂志*,1994,17(4):344
- 9 Dragunow M. A role for immediate-early transcription factors in learning and memory. *Behav-Genet*. 1996, 26:293
- 10 Grimm R, Schicknick H, Riede I, et al. Suppression of c-fos induction in rat brain impairs retention of a brightness discrimination reaction. *Learn-Mem*. 1997,3:402-13

\* 本课题受广西青年自然科学基金资助(桂科青 9811002)

收稿日期:2000-08-17