

针灸推拿

足阳明经穴针刺血清对家兔离体胃窦平滑肌细胞舒缩活动的影响

邓元江¹ 易受乡² 严洁² 林亚平² 郭晖² 刘卫英² 向志勇² 吴芳²

摘要 目的:探讨足阳明经穴针刺血清对家兔离体胃窦平滑肌细胞舒缩活动的影响,从离体细胞水平研究足阳明经与胃相关的特异性。方法:将45只家兔随机分为生理盐水组、阿托品模型组、针刺足阳明经穴组、针刺足少阳经穴组、针刺足太阳经穴组,每组9只。分组处理后,颈动脉采血制备针刺血清。另取正常家兔10只,取胃窦平滑肌,经Ⅱ型胶原酶消化后制成正常兔胃窦平滑肌细胞悬液。取1:2稀释的针刺血清与同体积的正常兔平滑肌细胞悬液作用,用戊二醛固定后在显微镜下以测微尺测定细胞长度。结果:阿托品模型组的血清能使正常兔胃窦平滑肌细胞舒张,细胞长度增加;针刺足阳明经穴组的血清可以促进正常兔胃窦平滑肌细胞收缩,细胞长度缩短,而针刺足少阳经穴组和针刺足太阳经穴组的血清对正常兔胃窦平滑肌细胞的长度影响不明显。结论:足阳明经穴针刺血清能使离体胃窦平滑肌细胞产生明显的收缩效应,从离体细胞水平进一步证实了足阳明经与胃相关的特异性。

关键词 肌细胞,平滑肌/针灸效应 穴位,胃经

Effects of Serum after Needling Acupoints of Foot-Yangming Channel on Diastolic and Contractive Activities of Isolated Gastric Antrum Smooth Muscle Cells in the Rabbit

Deng Yuanjiang¹, Yi Shouxiang², Yan Jie², et al.

(1. DME Center, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405; 2. Department of Acupuncture and Massage, Hunan College of TCM)

Objective: To explore effects of serum after needling acupoints of Foot-Yangming Channel on diastolic and contractive activities of isolated gastric antrum smooth muscle cells in the rabbits, so as to study on specificity of correlation between Foot-Yangming Channel and stomach. **Methods:** 45 rabbits were randomly divided into saline group, atropine model group, needling Foot-Yangming Channel's acupoint group, needling Foot-Shaoyang Channel's acupoint group and needling Foot-Taiyang Channel's acupoint group, 9 rabbits each group. Blood was taken from the carotid for preparing acupuncture serum. And 10 normal rabbits were selected and their gastric antrum smooth muscle were taken and digested with type II collagenase and then made as suspension of the normal rabbit's gastric antrum smooth muscle cells. Then 1:2 acupuncture serum was mixed with the same volume of the suspension of normal rabbit smooth muscle cells, and after fixation with glutaraldehyde the cellular length was measured with micrometer under a microscope. **Results:** Serum of the atropine model group could extend normal rabbit's gastric antrum muscle cells with the length of cell increased; Serum in the needling Foot-Yangming Channel's acupoint group could promote contraction of normal rabbit's gastric antrum smooth muscle cells with the length of cell shortened, while serum in both needling Foot-Shaoyang Channel's acupoint and needling Foot-Taiyang Channel's acupoint groups did not significantly induce contractive effect on the cells. **Conclusion:** The rabbit serum after needling acupoints of Foot-Yangming Channel can induce significant contraction of isolated gastric antrum smooth muscle cells, which proves the specificity of correlation between Foot-Yangming Channel and stomach.

Key Words Myocytes, smooth muscle/acup-mox effect; Acupoint, Stomach Channel

经络—脏腑相关理论是经络学说的核心问题,足阳明经与胃相关的相对特异性已被诸多在体实验所证

实,为了进一步从离体细胞水平探讨足阳明经与胃相关的相对特异性,本研究以胆碱能M受体拮抗剂阿托品静脉滴注,造成家兔胃运动抑制模型,分别针刺足三阳经穴后,制备针刺血清,借鉴血清药理学方法,以针刺血清作为桥梁,离体观察足阳明经穴针刺血清对正常兔胃窦平滑肌细胞舒缩长度的影响,并与足少阳经穴、足太阳经穴针刺血清和静脉滴注生理盐水、阿托品血清的作用进行对比研究,现小结如下。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30171136);湖南省教育厅重点项目(01A013)

1 广州中医药大学 DME 中心,广州市机场路 12 号(510405)

2 湖南中医学院

收稿日期:2004-10-13;修回日期:2004-12-16

1 材料与方法

1.1 实验分组与处理:健康新西兰大耳白兔 45 只,体重 1.9~2.3kg,雌雄不拘,由本院实验动物中心提供。根据实验需要随机分为 5 组,每组 9 只。实验前禁食 1 天,按 4ml/kg 的剂量,耳缘静脉注射 25%乌拉坦进行麻醉后,再按分组进行处理^[1]:(1)生理盐水组:耳缘静脉滴注 0.9%NaCl 溶液,滴速为 1ml/分钟,剂量为 10ml/kg。(2)阿托品模型组:耳缘静脉滴注以生理盐水配制的 2.5mg/100ml 的阿托品,滴速和剂量同生理盐水组。(3)针刺足阳明经穴组。(4)针刺足少阳经穴组。(5)针刺足太阳经穴组。后 3 组均先静脉滴注阿托品(滴注方法同阿托品模型组),再电针,即在滴完阿托品总量的一半时,开始分别电针双侧足阳明经穴、足少阳经穴、足太阳经穴 30 分钟,滴完另一半阿托品时拔掉输液针头。

1.2 主要仪器及试剂:TGL16M 型台式高速冷冻离心机(湖南科威实业有限公司),CBV-1500A 型多功能无菌工作台(上海瑞仰净化装备公司),XSP-18B 型双目光学显微镜(南京),Motic 数字显微镜(厦门)等。

HEPES、苕盼蓝(Sigma 公司),Ⅱ型胶原酶、大豆胰蛋白酶抑制剂、L-谷氨酰胺、L-谷氨酸钠(Worthington 公司),牛血清白蛋白(上海伯奥生物科技有限公司),戊二醛(Amresco 公司),阿托品注射液(湖南洞庭药业有限公司生产,1ml/支,0.5mg/支,批号:20030609),其他试剂均为国产分析纯试剂。

1.3 主要溶液的配制:(1)Hepes-Ringer 缓冲液^[1](mmol/L):HEPES(24.5),NaCl(101),KCl(13),NaH₂PO₄(2.5),CaCl₂(1.8),MgCl₂(1.2),L-谷氨酰胺(2),L-谷氨酸钠(5),葡萄糖(11.5),含 0.1%(w/v)牛血清白蛋白,以双蒸水配制,用 1%NaOH 调 pH 值,以酸度计测 pH 值,终溶液 pH 值为 7.4,用针式过滤器以孔径为 0.22μm 的滤膜过滤除菌,分装,-20℃保存。(2)消化液:以 Hepes-Ringer 缓冲液配制,含 0.1%Ⅱ型胶原酶和 0.01%大豆胰蛋白酶抑制剂,过滤除菌、分装,-20℃保存。(3)2.5%戊二醛固定液:取 50%戊二醛 1ml 加入双蒸水至 20ml,2~4℃冷藏保存。

1.4 取穴及针刺方法

1.4.1 取穴:针刺足阳明经穴组取双侧足三里、天枢、梁门、四白,针刺足少阳经穴组取双侧阳陵泉、带脉、日月、阳白,针刺足太阳经穴组取双侧与以上穴位同节段水平的承筋、背下点、背上点、攒竹。根据新世纪教材《实验针灸学》^[2]“家兔常用针灸穴位”的定位,结合人体解剖学采用比类法对家兔上述穴位进行定位。其中,

背下点位于背部足太阳膀胱经第 1 侧线上,背中线旁开约 1.5cm,平脐中水平处;背上点位于背部足太阳膀胱经第 1 侧线上,背中线旁开约 1.5cm,平梁门穴水平处。

1.4.2 针刺方法^[3]:采用 1 寸长 30 号的华佗牌毫针进行针刺。针刺后,同侧相邻的两个穴位从下至上接在华佗牌 SDE-Ⅱ型电子针疗仪(苏州医疗用品厂有限公司生产)的一组输出线上,采用疏密波、频率 3 挡(疏波频率 20Hz,密波频率 100Hz),强度以毫针出现轻微颤动为度,电针 30 分钟,电针期间每隔 10 分钟调整输出强度 1 次,以维持适当的刺激强度。

1.5 针刺血清的制备:各组处理完毕,颈动脉插管取动脉血 6ml,静置 1 小时,离心(4℃,3000r/min)15 分钟,取上清,用孔径为 0.22μm 的过滤膜过滤除菌,分装于 1.5ml EP 管中,-20℃保存。

1.6 正常兔胃窦平滑肌细胞悬液的制备:取健康成年新西兰大耳白兔 10 只,禁食 1 天后,麻醉固定,未经其他处理而手术取胃,无菌分离胃窦平滑肌,经Ⅱ型胶原酶消化后,制成正常兔胃窦平滑肌细胞悬液,具体制备方法见本课题组论文^[3]。用苕盼蓝检查细胞活性,实验要求活细胞在 95%以上,细胞数目为 10⁶/ml。

1.7 针刺血清与正常兔胃窦平滑肌细胞作用的方法:将各组-20℃冷冻的针刺血清常温解冻后,在恒温水浴箱中 56℃灭活 30 分钟,根据预试结果以 Hepes-Ringer 液稀释成 1:2,取 50μl 稀释血清于 96 孔培养板中,加入 50μl 正常兔胃窦平滑肌活细胞悬液,以移液枪吹打混匀,反应 30 秒时,加 2.5%戊二醛 30μl 固定,2~4℃冷藏保存,进行胃窦平滑肌细胞长度的测定。

1.8 平滑肌细胞长度的测定:取上述固定了的细胞悬液于洁净的两张载玻片上,加盖玻片后在倒置的显微镜下测量(10×40 倍),用测微尺(网形 10×10 格,每格代表实际长度 12.5μm)随机测量在视野中出现的 60 个完整细胞长轴的长度,以平均值表示该样本的细胞舒缩长度(单位:μm)。

1.9 统计学处理:各组实验数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用统计分析软件 SPSS10.0 for Windows 进行统计处理,多组均数比较用方差分析法。满足正态性和方差齐性时,两两比较用 LSD 法;方差不齐时,选用 Dunnett's T3 法。

2 结果

针刺血清对正常兔胃窦平滑肌细胞舒缩活动的影响:附表表示,各组血清与正常兔离体胃窦平滑肌细胞作用后,细胞的长度发生了变化。其中:(1)阿托品模型

组、针刺足少阳经穴组、针刺足太阳经穴组的血清与正常兔的胃窦平滑肌细胞作用后细胞呈舒展状态,其长度均长于生理盐水组,其中针刺足少阳经穴组与生理盐水组比较差异有显著性($P < 0.05$);但针刺足阳明经穴组的细胞长度明显短于生理盐水组,差异有显著性($P < 0.01$)。(2)针刺足阳明经穴组的细胞长度明显短于阿托品模型组,差异有显著性($P < 0.01$);针刺足少阳经穴组、针刺足太阳经穴组与阿托品模型组比较,差异均无显著性($P > 0.05$)。(3)针刺足阳明经穴组的细胞长度明显短于针刺足少阳经穴组、针刺足太阳经穴组,差异均有显著性($P < 0.01$);针刺足少阳经穴组与针刺足太阳经穴组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。

附表 针刺血清对正常兔胃窦平滑肌细胞舒缩活动的影响($\mu\text{m}, \bar{x} \pm s$)

组别	动物数	细胞长度
生理盐水组	9	66.65 ± 6.87
阿托品模型组	9	74.36 ± 9.44*
针刺足阳明经穴组	9	42.05 ± 7.85 $\Delta\Delta$
针刺足少阳经穴组	9	77.33 ± 9.80 Δ^*
针刺足太阳经穴组	9	72.91 ± 10.42*

与生理盐水组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与针刺足阳明经穴组比较, * $P < 0.01$

3 讨论

足阳明胃经是人体一条重要经脉,其循行分布跨越了头颈、胸腹、下肢至足趾,在体内属胃络脾。我们从临床观察和实验研究两方面肯定了足阳明经与胃有相对特异性的联系。

血清药理学是指药物经口给动物灌服一定时间后采集动物的血液、分离血清,用此含药物成分的血清进行体外实验的一种实验方法,具有体外实验可控性强、药物效应易于检测、可深入揭示药物作用机理的优点,代表了药物在体内产生作用的真正有效成分。受血清药理学的启发,产生了针灸血清研究。所谓针灸血清研究,是指把从针灸处理的人或动物上采集到的血清作

为效应物质加入到另一反应系统中,同离体靶器官、组织或细胞等产生作用,以直接观察其功能和形态学的改变,直接观察针灸处理后产生的效应^[4]。针灸血清中不仅含有若干含量或活性发生改变的活性物质,可能还存在着某些性质和结构未明的蛋白质^[6],这为其借鉴血清药理学、中药血清学的研究思路和方法提供了基础。如有人观察到,电针足三里等穴后采集的针刺血清,对创伤大鼠脾淋巴细胞增殖反应的抑制作用与创伤血清相比明显减弱,直观地显示电针可有效消减创伤对淋巴细胞功能的抑制^[5]。亦有研究表明,针刺足阳明经穴对胃运动的影响与血液中某些脑肠肽,如胃动素(MTL)、P物质(SP)、胆囊收缩素(CCK)等的变化密切相关。尽管针灸血清的实验方法还是初步的,但针灸血清的研究和应用将有利于拓宽针灸领域,推动针灸作用及其机理研究,从而深化对针灸作用规律和特征的认识。

本研究结果提示,足阳明经穴针刺血清可使离体正常兔胃窦平滑肌细胞舒缩长度明显缩短($P < 0.01$),细胞收缩增强,而足少阳经穴、足太阳经穴针刺血清对胃窦平滑肌细胞的作用均不明显,表明足阳明经具有经脉的相对特异性,在离体细胞水平证实了足阳明经与胃相关的理论。

参考文献

- 王文颖,周吕,郝维.八肽胆囊收缩素和胃动素引起大鼠胃平滑肌细胞收缩的胞内钙、IP₃释放作用.中华消化杂志,1997,17(增刊):30~33.
- 李忠仁.实验针灸学.北京:中国中医药出版社,2003:314~319.
- 邓元江,易受乡,严洁,等.针刺足阳明经穴对家兔胃窦平滑肌细胞内钙离子浓度的影响.中医杂志,2004,45(8):492~494.
- 陈汉平,裴建.关于“针灸血清”方法的研究和应用.上海针灸杂志,1998,17(1):1~2.
- 孙德利,陈汉平.“针灸血清”的研究方法及意义.浙江中医学院学报,1999,23(3):59.
- 陈汉平.东南久矣要张机——再谈“针灸血清”的研究.上海针灸杂志,2002,21(1):1.

话,来稿经专家评审,合格者将在《中医杂志》增刊刊出;论文截稿日期:2005年7月31日。

3. 联系方式:地址:北京市东直门内南小街16号中国中医研究院科技合作中心,邮编:100700,电话:010-64053111、64044765,传真:010-64070793 联系人:吕燕,E-mail:lvyan001@sohu.com

《黄帝内经》纪录片征订启事

《黄帝内经》是一部全面记录中华民族生息繁衍、医学发展的经典巨著。《黄帝内经》纪录片以故事化的方式,全面系统地介绍了《黄帝内经》的全部内容。医史篇8张碟160元;医理篇11张碟198元;养生篇11张碟198元。内容丰富、生动、形象,它记录了中国历史上与养生有关的孔子、孙思邈、陶弘景等名家名医;记录了针灸、推拿、艾灸等诊疗技术;记录了祖国各地的风土民情和水、酒、茶、饮食、起居与人体健康的历史故事。

电话:(010)64014411-3041,13911381299,传真:(010)64050201,联系人:浦战兵,地址:北京市东城区东直门内南小街16号中医杂志社医海林音像书店,邮编:100700

2005 海峡两岸及港澳地区中医药学术研讨会 征文通知

今年为中国中医研究院在建院50周年,拟于2005年9月中旬在北京召开“2005 海峡两岸及港澳地区中医药学术研讨会”,邀请港、澳、台与内地从事中医药科研、医疗、教育、管理的专家、学者共同参与交流。现征文如下。

1. 征文内容:中医药学的基础研究;中医药学临床各种常见病、疑难病、危重症的诊治经验总结;中医和中西医结合临床治疗的新成果、新技术、新经验;中医药临床特色经验与特种技术的应用;非药物疗法在临床中的应用研究;中医药现代化研究的新思路、新技术、新方法;中医药标准化与国际化研究;中医药知识产权保护;中医药资源保护、合理利用及可持续发展;现代科学技术与中医药研究;中药新药及健康相关产品的研究、开发与应用;中医药产业及贸易的现代化与国际化;中医药人才培养。

2. 征文要求:论文要求未公开发表过;全文3000字左右,并请附800字中文摘要;来稿免收审稿费,请务必注明作者姓名、工作单位、通讯地址、邮编和联系电话。