

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.16.013

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

潘小丽¹, 王计雨¹, 康朝霞¹, 韩永丽¹, 徐派的¹, 周利², 张红星^{*}

(1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院, 湖北省武汉市武昌区昙华林 188 号, 430061; 2. 武汉市第一医院)

摘要 目的 探讨电针“足三里”治疗功能性消化不良的可能机制。方法 将 32 只 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、电针组、假电针组, 每组 8 只。除空白组外, 其余大鼠均采用多因素应激干预法建立功能性消化不良大鼠模型。电针组采用毫针直刺双侧“足三里”15~20 mm, 后接韩式穴位神经刺激仪。假电针组采用安慰针灸针刺双侧“足三里”后不连接电针仪。以上两组均每次干预 20 min, 每日 1 次, 连续 7 天。空白组不施加干预措施, 模型组仅抓取固定。干预结束后检测各组大鼠胃内残留率和小肠推进率, 检测胃窦组织酪氨酸激酶受体(c-kit)、微管相关蛋白 1 轻链 3(LC3)及自噬基因 Beclin1 蛋白及 mRNA 表达。结果 与空白组比较, 模型组大鼠胃内残留率升高, 小肠推进率降低, 胃窦组织 c-kit 蛋白及 mRNA 表达下调, 微管相关蛋白 1 轻链 3 II/微管相关蛋白 1 轻链 3 I(LC3-II/LC3-I)及 LC3 mRNA、Beclin1 蛋白及 mRNA 表达增高($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组胃内残留率降低, 小肠推进率升高, 胃窦组织 c-kit 蛋白及 mRNA 表达上调, LC3-II/LC3-I 及 LC3 mRNA、Beclin1 蛋白及 mRNA 表达下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 模型组与假电针组 LC3-II/LC3-I、LC3 mRNA 指标组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 其余指标组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 电针“足三里”能够改善功能性消化不良模型大鼠胃肠动力障碍, 其作用机制可能是通过抑制胃窦 Cajal 间质细胞过度自噬从而恢复细胞数量发挥作用的。

关键词 功能性消化不良; 电针; 足三里; Cajal 间质细胞; 细胞自噬

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种常见的功能性胃肠病, 经检查往往无明显器质性病变, 是以早饱、餐后饱胀、上腹部胀或痛、嗝气、恶心、呕吐等为主要表现的一种临床综合征^[1]。全球流行病学调查^[2]显示, FD 患病率达到 20.8%, 其治疗占用了大量医疗资源。目前研究^[3]认为, 胃肠动力障碍是 FD 的主要病理生理基础。胃肠平滑肌的电活动决定了胃肠道运动, 而慢波电位的产生能引起动作电位, 从而决定胃肠平滑肌的收缩节律进而调控胃肠道运动^[4]。Cajal 间质细胞(intestinal cells of cajal, ICC)作为胃肠道慢波活动的起搏细胞, 可产生慢波和传导电兴奋, 因此 ICC 在维持胃肠动力方面发挥了重要作用^[5-8]。近年来研究^[7-8]发现, ICC 结构异常和数量减少均可导致

胃肠动力障碍, 而 ICC 的过度自噬很可能是导致 ICC 数量减少的关键因素。既往临床试验^[9]和动物实验研究^[10]表明, 电针“足三里”可有效促进 FD 胃肠动力。本实验以 FD 大鼠为研究对象, 观察电针“足三里”对胃窦组织酪氨酸激酶受体(c-kit)、微管相关蛋白 1 轻链 3(LC3)、自噬基因 Beclin1 蛋白及 mRNA 表达的影响, 探讨电针调节 FD 胃肠动力障碍的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 32 只, 6~8 周龄, 体重(200±20)g, 实验动物许可证号: SCXK(鄂)2017-0012, 由湖北省医学科学研究院实验动物中心提供。置于室温为(22±2)℃、相对湿度为(50±10)%、12h 明暗交替光照条件下, 自由饮食、饮水适应性喂养 1 周后开始实验。

1.2 主要试剂和仪器

0.9% 氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限

基金项目: 国家自然科学基金(81473790, 81704178); 2016 年度黄鹤英才(专项)计划(武人才办[2017]2 号); 湖北省教育厅科学技术研究项目(B2017103)

* 通讯作者: zhxzj99@aliyun.com

公司, 国药准字 H43020456); 水合氯醛 (青岛宇龙海藻有限公司, 国药准字 H37022673); 活性炭粉 (上海信裕生物科技有限公司, 批号 7440-440); 10% 阿拉伯树胶 (湖北裕盈生物科技有限公司, 批号 9000-01-5); 磷酸酶抑制剂 (批号 S1873)、RIPA 裂解液 (批号 P0013B)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (批号 P0010), 均为 Trizol (货号: 15596-026, 美国 Ambion 公司); 逆转录试剂盒 (货号: R101-01/02)、SYBR Green Master Mix (货号: Q111-02), 均为 VAZYME 公司产品; c-kit 抗体 (货号: SC-365504, 美国 Santa Cruz 公司); LC3 抗体 (货号: AF5402, Affinity 公司); 自噬基因 Beclin1 抗体 (货号: 11306-4-AP, 武汉三鹰生物技术有限公司); 蛋白标记物 (货号: DM111, 北京全式金生物技术有限公司); GAPDH 抗体 (货号: AB-P-R 001, 杭州贤至生物有限公司)。

HANS-200A 型韩式穴位神经刺激仪 (南京济生医疗科技有限公司); 一次性无菌针灸针 (规格: 0.30 mm × 40 mm, 上海泰成科技发展有限公司); 安慰针 (规格: 0.30 mm × 30 mm, 德国 Asiamed 公司); QuantStudio 6 型实时荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司); DYY-7C 型电泳仪电源、DYCZ-24DN 型垂直电泳槽、DYCZ-40 型电转仪, 均购自北京六一仪器厂; SpectraMax iD3 型酶标仪、ND-ONE-W 型微量分光光度计均购自 Thermo 公司; HI650 型离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.3 模型制备

采用多因素应激干预法建立 FD 大鼠模型^[11-12], 即郭氏夹尾刺激 + 隔日喂养 + 0℃ 生理盐水灌胃方法联合应用。1) 采用长海绵钳夹大鼠尾巴远端 1/3 处, 以不破皮为度 (如有抓伤破皮, 则用 0.5% 碘伏消毒皮损部位以防感染), 令其暴怒, 并寻衅与其他大鼠厮打, 以激怒全笼大鼠。每次 30 min, 每日 8:30 和 14:30 各夹尾 1 次, 连续刺激 2 周; 2) 逢单日禁食, 双日正常进食, 自由饮水; 3) 夹尾前 30 min 从 0℃ 冰箱取出 0.9% 氯化钠注射液进行灌胃 (2 ml/只), 每日 2 次。造模成功标志为大鼠毛发枯乱发黄、便溏、饮食量显著减少、活跃程度减弱、扎堆甚至蜷卧, 情绪由开始的易怒烦躁转为情绪低落等, 解剖大鼠未发现胃肠组织器质性病变。

1.4 分组和干预方法

采用随机数字表法分为空白组、模型组、电针组、假电针组, 每组 8 只。造模结束后第 2 天开始

干预。电针组: 采用自制鼠衣将大鼠固定后, 参照《实验针灸学》^[13] 取双侧“足三里” (后肢前外侧, 腓骨小头外下方 5 mm 处)。皮肤常规消毒, 采用一次性无菌针灸针直刺 15 ~ 20 mm, 快速捻转至手下有沉滞感提示得气, 后接韩式穴位神经刺激仪, 采用连续波, 频率 4 Hz, 电流强度为 1 mA; 假电针组固定、取穴方法同上, 采用安慰针针灸针刺双侧“足三里”后, 不连接电针仪。电针组与假电针组治疗时间均为 20 min, 每日 1 次, 连续 7 天。空白组不干预, 模型组仅抓取、固定。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 胃内残留率和小肠推进率 干预结束后, 禁食不禁水 12 h, 各组大鼠称重后按照 (2 ml/100 g) 体质量以营养半固体糊灌胃, 10 min 后予以墨汁 (1 ml/100 g) 灌胃, 30 min 后予以 10% 水合氯醛 (0.35 ml/100 g) 依次麻醉大鼠并将大鼠头部及四肢固定, 剖开腹腔, 暴露全胃, 用医用丝线结扎大鼠贲门和幽门, 剪取全胃, 电子秤上称胃全重, 沿胃大弯剪开胃体, 并用 0.9% 氯化钠溶液洗去胃内容物后拭干, 再置于电子秤上称胃净重, 同时剪取胃窦部分装入冻存管中, 放置 -80℃ 冰箱保存。同时迅速取出小肠, 将其全部展开进行测量。胃全重和胃净重的差值为胃残留物重, 胃残留物重与所给糊重的百分比即为胃内残留率。测量小肠总长度和幽门至墨汁前沿的长度 (即墨汁推进长度), 小肠推进率 = 墨汁推进长度/小肠总长度 × 100%。营养半固体糊: 称取 5 g 羧甲基纤维素溶于 125 ml 蒸馏水中, 然后分别加入 8 g 奶粉、4 g 白糖、4 g 淀粉、8 g 活性炭粉, 配成约 150 g 的半固体糊, 待所用试剂放入后在恒温磁力搅拌器下搅拌均匀成糊状备用。墨汁: 称取 10% 阿拉伯树胶 100 g, 放入 800 ml 蒸馏水中, 用酒精灯加热煮至透明色, 再称取 5% 活性炭粉 50 g 加入溶液中, 煮沸 3 次, 等溶液恢复至室温后加水至 1000 ml, 配置完成后放置 4℃ 冰柜备用。

1.5.2 胃窦组织 c-kit、LC3、Beclin1 蛋白表达

采用蛋白质免疫印迹法检测。每组取 6 只大鼠胃窦组织冻存, 用匀浆器研磨后, 加入 400 μl RIPA 裂解液于冰上裂解, 充分匀浆, 裂解 30 min 后在 4℃、12000 r/min 离心 (半径 10 cm) 5 min, 取上清液, BCA 试剂盒测定蛋白浓度。每个样本取 40 μg 进行凝胶电泳 (SDS-PAGE), 将凝胶上蛋白转至 PVDF 膜上, 室温封闭 2 h 后洗膜, 用封闭液稀释一抗, 4℃ 过夜, HRP 标记二抗 (1:50000), 室温 2 h, TBST 洗膜, 滴加 ECL 发光液曝光观察条

带,以 GAPDH 作为内参,采用 BandScan 5.0 软件分析胶片灰度值。

1.5.3 胃窦组织 c-kit、LC3、Beclin1 mRNA 表达

采用实时荧光定量 PCR 技术检测。胃窦组织按照 Trizol 法提取总 RNA,用微量分光光度计测定 RNA 的纯度和浓度,严格按照逆转录试剂盒进行逆转录实验,按照 SYBR Green Master Mix 试剂盒进行扩增实验,引物由北京擎科新业生物技术有限公司合成。 β -actin: 上游 5'-CACGATGGAGGGCCGGACTCATC-3', 下游 5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT-3', 产物长度 240bp; c-kit: 上游 5'-TCAAGGAAGGTTTC-CGAATG-3', 下游 5'-TCTCTGGGTTGGGGTTACAG-3', 产物长度 195bp; LC3: 上游 5'-AAAATGGGGCACGGATGAAG-3', 下游 5'-GCAGGTCT-TCAAAATGCCCA-3', 产物长度 155bp; Beclin1: 上游 5'-GAGGTACCGACTTGTTCCT-3', 下游 5'-CCTTTCTCCACGTCCATCCT-3', 产物长度 225bp。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行 mRNA 的相对表达量分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,符合正态性和方差齐性的资料采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠胃内残留率和小肠推进率比较

表 1 示,与空白组比较,模型组、电针组、假电针组大鼠胃内残留率升高,小肠推进率降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,电针组胃内残留率降低,小肠推进率升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而假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无统计学意义 ($P > 0.05$)。与假电针组比较,电针组胃内残留率降低,小肠推进率升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠胃内残留率和小肠推进率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	胃内残留率	小肠推进率
空白组	8	36.41 $\pm$ 16.41	70.61 $\pm$ 12.58
模型组	8	70.92 $\pm$ 13.75 **	40.42 $\pm$ 6.56 **
电针组	8	57.33 $\pm$ 6.82 ** Δ	60.01 $\pm$ 6.82 $\Delta\Delta$
假电针组	8	72.19 $\pm$ 12.08 ** Δ	45.16 $\pm$ 7.76 ** $\Delta\Delta$

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与电针组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.2 各组大鼠胃窦组织 c-kit、LC3-II/LC3-I、Beclin1 蛋白表达比较

表 2 示,与空白组比较,模型组、电针组、假

电针组大鼠胃窦组织 c-kit 蛋白表达明显降低,LC3-II/LC3-I、Beclin1 蛋白表达明显升高 ($P < 0.01$)。电针组大鼠胃窦组织 c-kit 蛋白高于模型组,LC3-II/LC3-I、Beclin1 蛋白表达低于模型组 ($P < 0.01$)。假电针组大鼠胃窦组织 c-kit、Beclin1 蛋白表达与模型组相比,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),LC3-II/LC3-I 与模型组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与假电针组比较,电针组大鼠胃窦组织 c-kit 蛋白表达升高,LC3-II/LC3-I、Beclin1 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠胃窦组织 c-kit、LC3-II/LC3-I、Beclin1 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	c-kit	LC3-II/LC3-I	Beclin1
空白组	6	0.494 $\pm$ 0.081	0.208 $\pm$ 0.028	0.161 $\pm$ 0.042
模型组	6	0.117 $\pm$ 0.049 *	0.686 $\pm$ 0.037 *	0.659 $\pm$ 0.081 *
电针组	6	0.369 $\pm$ 0.080 ** $\Delta\Delta$	0.373 $\pm$ 0.075 ** $\Delta\Delta$	0.358 $\pm$ 0.107 ** $\Delta\Delta$
假电针组	6	0.137 $\pm$ 0.036 ** Δ	0.616 $\pm$ 0.068 ** Δ	0.600 $\pm$ 0.068 ** Δ

注:c-kit,酪氨酸激酶受体;LC3-II,微管相关蛋白 1 轻链 3 II;LC3-I,微管相关蛋白 1 轻链 3 I;与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与电针组比较, $\Delta P < 0.01$

2.3 各组大鼠胃窦组织 c-kit、LC3、Beclin1 mRNA 表达比较

表 3 示,与空白组比较,模型组、电针组、假电针组大鼠胃窦组织 c-kit mRNA 表达明显降低,LC3、Beclin1 mRNA 表达明显升高 ($P < 0.01$)。电针组大鼠胃窦组织 c-kit mRNA 高于模型组,LC3 mRNA、Beclin1 mRNA 表达低于模型组 ($P < 0.01$)。假电针组大鼠胃窦组织 c-kit、Beclin1 mRNA 表达与模型组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),LC3 mRNA 与模型组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与假电针组比较,电针组大鼠胃窦组织 c-kit mRNA 表达升高,LC3 mRNA、Beclin1 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)。

表 3 各组大鼠胃窦组织 c-kit、LC3、Beclin1 mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	c-kit	LC3	Beclin1
空白组	6	0.924 $\pm$ 0.148	1.055 $\pm$ 0.153	1.218 $\pm$ 0.165
模型组	6	0.190 $\pm$ 0.078 *	3.108 $\pm$ 0.230 *	3.610 $\pm$ 0.210 *
电针组	6	0.616 $\pm$ 0.065 ** $\Delta\Delta$	1.916 $\pm$ 0.150 ** $\Delta\Delta$	2.151 $\pm$ 0.197 ** $\Delta\Delta$
假电针组	6	0.256 $\pm$ 0.054 ** Δ	2.820 $\pm$ 0.306 ** Δ	3.390 $\pm$ 0.281 ** Δ

注:c-kit,酪氨酸激酶受体;LC3,微管相关蛋白 1 轻链 3;与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与电针组比较, $\Delta P < 0.01$

3 讨论

中医学认为, FD 属于“胃痞”“嘈杂”等范畴, 饮食不节和情志所伤为其主要发病因素。本研究采用郭氏夹尾刺激 + 隔日喂养 + 0℃ 生理盐水灌胃多因素刺激造模方法, 模拟 FD 饮食不节与情志刺激的发病因素复制 FD 模型。足三里既是足阳明胃经合穴, 又是胃腑的下合穴, 具有调理中焦、降逆理气、健脾益胃的功效。《针灸资生经·腹满》记载“三里, 疗腹满”, 《普济方·反胃》曰: “治胃气不足, 反胃, 穴三里”, 充分说明了凡脾胃之病, 无问阴阳、寒热、虚实皆可取足三里以平衡阴阳、调节寒热、补虚泻实。本实验结果表明, 与正常组相比, 模型组大鼠胃内残留率明显升高, 小肠推进率明显下降, 提示 FD 造模成功。经电针“足三里”干预后, 电针组大鼠胃排空和小肠推进力得到明显改善, 表明电针“足三里”能显著改善 FD 模型大鼠胃肠动力障碍。

ICC 是胃肠道的一种特殊间质细胞, 与胃肠运动密切相关, 其数量和结构异常均可导致胃肠动力障碍^[14-15]。c-kit 是 ICC 的标志物基因。Zhang 等^[16]研究发现, FD 模型大鼠胃组织 c-kit 阳性细胞数量明显减少。本实验结果显示, 模型组大鼠 c-kit 蛋白及 mRNA 表达均明显低于空白组, 与之前文献研究结果^[16-17]一致。经电针“足三里”后, 可促进 c-kit 蛋白及 mRNA 表达, 从而阻止 ICC 数量减少, 而假电针组 c-kit 蛋白及 mRNA 表达未见明显变化, 说明电针“足三里”具有明显治疗作用。

细胞自噬是细胞受到刺激后吞噬自身的细胞质或细胞器, 最终将吞噬物在溶酶体内降解的过程, 当细胞处于饥饿、应激等条件下, 细胞有可能发生过度自噬, 最终诱导细胞发生程序性死亡, 导致细胞数量减少和功能障碍或缺失^[18]。已有研究^[19]表明, 在胃肠动力障碍的结肠炎模型大鼠 ICC 中出现过度自噬现象。自噬过程是由一系列自噬相关蛋白介导完成的, LC3 是自噬体膜上的标记蛋白, 其存在有两种形式即 LC3-I 和 LC3-II, 通过 LC3-II / LC3-I 值可反映自噬水平^[20]。自噬基因 Beclin1 是细胞自噬关键调控蛋白之一, Beclin1 通过与其他许多自噬调控蛋白结合形成蛋白复合体, 进而调控自噬水平^[21]。本研究结果显示, 电针组 LC3-II / LC3-I 值及 LC3 mRNA、Beclin1 蛋白及 mRNA 较模型组和假电针组均明显下降, 说明电针“足三里”可以抑制 ICC 过度自噬水平。此外, 假电针

组 LC3-II / LC3-I 值及 LC3 mRNA 与模型组相比下降, 差异具有统计学意义, 说明假电针组和电针组 ICC 自噬水平均明显下降, 并且电针“足三里”能更有效地降低 ICC 自噬水平。

综上所述, 电针“足三里”对 FD 模型大鼠胃肠动力障碍具有明显的调节作用, 其作用机制可能是通过下调自噬标记物 LC3、Beclin1 蛋白及 mRNA 的表达, 上调 ICC 标志物基因 c-kit 蛋白及 mRNA 的表达而发挥作用。

参考文献

- [1] DROSSMAN DA. Functional gastrointestinal disorders: history, pathophysiology, clinical features and Rome IV [J]. Gastroenterology, 2016, pii: S0016-5085(16) 00223-7. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.032.
- [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.
- [3] CARBONE F, TACK J. Gastrointestinal mechanisms underlying functional gastric disorders [J]. Dig Dis, 2014, 32(3): 222-229.
- [4] CHENG LK, O'GRADY G, DU P, et al. Gastrointestinal system [J]. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med, 2010, 2(1): 65-79.
- [5] YAMAMOTO T, WATABE K, NAKAHARA M, et al. Disturbed gastrointestinal motility and decreased interstitial cells of Cajal in diabetic db/db mice [J]. Gastroenterol Hepatol, 2008, 23(4): 660-667.
- [6] BLAIR PJ, RHEE PL, SANDERS KM, et al. The significance of interstitial cells in neuro-gastroenterology [J]. Neurogastroenterol Motil, 2014, 20(3): 294-317.
- [7] PARDI DS, MILLER SM, MILLER DL, et al. Paraneoplastic dysmotility: loss of interstitial cells of Cajal [J]. Am J Gastroenterol, 2002, 97(7): 1828-1833.
- [8] STREUTKER CJ, HUIZINGA JD, CAMPBELL F, et al. Loss of CD117 (c-kit) and CD34-positive ICC and associated CD34-positive fibroblasts defines a subpopulation of chronic intestinal pseudo-obstruction [J]. Am J Surg Pathol, 2003, 27(2): 228-235.
- [9] 张月, 张国山, 刘雨儿, 等. 电针足三里对功能性消化不良大鼠胃电节律的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(26): 3953-3957.
- [10] 彭随风, 杨家耀, 时昭红. 电针改善功能性消化不良胃动力、自主神经功能及心理状态 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(36): 4105-4109.
- [11] 郭海军, 林洁, 李国成, 等. 功能性消化不良的动物模型研究 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001, 9(3): 141-142.

- [2] 王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 等. 复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型 [J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(2): 210-214.
- [3] 李忠仁. 实验针灸学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 68-70.
- [4] HUIZINGA JD, LAMMERS WJ. Gut peristalsis is governed by a multitude of cooperating mechanisms [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009, 296(1): G1-G8.
- [5] ZHANG G, XIE S, HU W, et al. Effects of Electroacupuncture on Interstitial Cells of Cajal(ICC) Ultrastructure and Connexin 43 Protein Expression in the Gastrointestinal Tract of Functional Dyspepsia(FD) Rats [J]. Med Sci Monit, 2016, 22: 2021-2027. doi: 10. 12659/msm. 899023.
- [6] ZHANG LM, ZENG LJ, DENG J, et al. Investigation of autophagy and differentiation of myenteric interstitial cells of Cajal in the pathogenesis of gastric motility disorders in rats with functional dyspepsia [J]. Biotechnol Appl Biochem, 2018, 65(4): 533-539.
- [7] 韩永丽, 陈松, 康朝霞, 等. 艾灸对功能性消化不良大鼠 cajal 间质细胞 c-kit 表达的影响 [J]. 湖北中医药大学学报, 2017, 19(6): 8-11.
- [8] LEVINE B, KROEMER G. Autophagy in aging, disease and death: the true identity of a cell death impostor [J]. Cell Death Differ, 2009, 16(1): 1-2.
- [9] DAI YC, ZHENG L, ZHANG YL, et al. Jianpi Qingchang decoction regulates intestinal motility of dextran sulfate sodium-I nduced colitis through reducing autophagy of interstitial cells of Cajal [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(26): 4724-4734.
- [10] MIZUSHIMA N. Methods for monitoring autophagy [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(12): 2491-2502.
- [11] KANG R, ZEH HJ, LOTZE MT, et al. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis [J]. Cell Death Differ, 2011, 18(4): 571-580.

Effect of Electroacupuncture “Zusanli (ST36) ” on Autophagy of Gastric Antrum Cajal Interstitial Cells in Functional Dyspepsia Model Rats

PAN Xiaoli¹, WANG Jiyu¹, KANG Zhaoxia¹, HAN Yongli¹, XU Paidi¹, ZHOU Li², ZHANG Hongxing¹

(1. College of Acupuncture and Moxibustion, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061; 2. Wuhan First Hospital)

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of electroacupuncture at “Zusanli (ST36) ” in the treatment of functional dyspepsia (FD) . **Methods** A total of 32 SD rats were randomly divided into a blank group, a model group, an electroacupuncture group and a sham electroacupuncture group, with 8 rats in each group. Except for the blank group, the other rats were received a multi-factor stress intervention method to establish a FD rat model. The electroacupuncture group used a fine needle to directly puncture bilateral “Zusanli (ST36) ” to 15 – 20 mm, and connected by a Han’s acupoint nerve stimulator. In the sham electroacupuncture group, placebo acupuncture needles were used to stimulate the bilateral “Zusanli (ST36) ” and the electroacupuncture device was not connected. The above 2 groups were received intervention for 20 min, once a day for 7 consecutive days. The blank group did not impose interventions, and the model group only grabbed fixation. After the intervention, the gastric residual rate and small intestinal propulsion rate of each group were detected. The tyrosine kinase receptor (c-kit), microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) and autophagy gene Beclin1 protein and mRNA expression were detected. **Results** Compared with the blank group, the gastric residual rate of the model group was increased. The intestinal propulsion rate was decreased, and the expression of c-kit protein and mRNA was down-regulated in the gastric antrum. Microtubule-associated protein 1 light chain 3II/microtubule-associated protein 1 light chain I, and the expression of 3I (LC3-II / LC3-I) and LC3 mRNA, Beclin1 protein and mRNA increased ($P < 0.01$) . Compared with the model group, the residual rate of gastric in the electroacupuncture group decreased, and the intestinal propulsion rate increased. The gastric antrum tissue c-kit protein and mRNA expression were up-regulated, and LC3-II / LC3-I and LC3 mRNA, Beclin1 protein and mRNA expression decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) ; Compared between the model group and the sham electroacupuncture group, the difference of LC3-II / LC3-I , LC3 mRNA index between the 2 groups was statistically significant ($P < 0.05$) . There was no significant difference between the other groups ($P > 0.05$) . **Conclusion** Electroacupuncture at “Zusanli (ST36) ” can improve gastrointestinal motility disorder in FD rats. The mechanism may be to restore the number of cells by inhibiting excessive autophagy of gastric antrum Cajal interstitial cells.

Keywords functional dyspepsia; electroacupuncture; Zusanli (ST36) ; Cajal interstitial cells; autophagy

(收稿日期: 2018 - 10 - 08; 修回日期: 2019 - 03 - 15)

编辑: 邓 媛