

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2023.05.014

针刺“百会”“水沟”“大椎”穴对脑缺血再灌注损伤模型大鼠海马区差异 circRNAs 表达的影响

唐红¹, 汪红娟¹, 江姗姗¹, 吕倩忆², 王瑶¹, 谢灿明¹, 李燕平¹, 田浩梅¹, 陈楚洵¹✉

1. 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号, 410208; 2. 四川省成都市第二人民医院

[摘要] **目的** 从海马体基因表达方面探讨针刺大椎、百会、水沟穴治疗脑缺血再灌注损伤的可能作用机制。**方法** 39只SD大鼠随机分为假手术组、模型组、针刺组各13只。模型组和针刺组大鼠使用线栓法制备大鼠脑缺血再灌注损伤模型。造模后, 针刺组大鼠捆绑后针刺“百会”“水沟”“大椎”穴, 留针30 min, 每15 min捻转1次, 平补平泻, 共针刺7次, 每次间隔12 h; 假手术组、模型组只捆绑不针刺。于针刺前、针刺后进行神经功能缺损评分; 针刺后TTC染色观察脑梗死情况, 采用circRNAs微阵列芯片分析大鼠缺血侧海马区circRNAs差异表达, 并用qRT-PCR法验证差异基因的表达。**结果** 针刺前, 与假手术比较, 针刺组、模型组神经功能评分显著降低($P<0.01$); 针刺后, 针刺组神经功能评分较本组针刺前提高, 亦高于模型组($P<0.05$)。与模型组比较, 针刺组脑梗死面积比下降($P<0.05$)。CircRNAs微阵列芯片检测结果显示, 模型组/假手术组差异表达的circRNAs共215个, 其中上调59个, 下调156个; 针刺组/假手术组差异表达的circRNAs共5个, 其中上调1个, 下调4个; 针刺组/模型组差异表达circRNAs 2个, 均上调。模型组/假手术组与针刺组/模型组共表达的差异基因有2个, 分别为circ-011989和circ-009775。选取共表达差异基因 $|\log_2 FC| \geq 1.5$ 最高的差异基因circ-011989进行验证, 结果显示, 与假手术组比较, 模型组大鼠海马区circ-011989表达量减少($P<0.05$); 与模型组比较, 针刺组大鼠海马区circ-011989表达量增加($P<0.05$)。**结论** 针刺“大椎”“百会”“水沟”穴可改善脑缺血再灌注损伤模型大鼠神经功能, 减小脑梗死面积, 其机制可能与调控缺血侧海马区circ-011989的表达有关。

[关键词] 脑缺血再灌注损伤; 针刺; 神经功能缺损; 脑梗死面积; circRNAs; 海马区

缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是脑动脉闭塞不通引起脑组织缺血缺氧的神经系统疾病, 是常见致死致残疾病之一^[1], 在我国占脑卒中疾病类型的69.6%^[2], 多见大脑中动脉闭塞。临床主要通过溶栓恢复受损组织血氧供应, 但再灌注可能会加重缺血导致的原始脑组织功能障碍, 即脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI)^[3], 其为继发性损伤, 机制更加复杂。CircRNAs是一种新型非编码RNA, 既不含5'端帽头部, 也不含3'端Poly(a)尾部, 为封闭的环形结构, 较线性

RNA稳定^[4]。CircRNAs在脑组织中特异性富集, 影响神经细胞的发育^[5]。研究^[6-7]证明, circRNA与调控CIRI过程中的神经细胞自噬、凋亡以及血管内皮功能的蛋白和基因相关, 并在其进展中具有重要作用。

近年来, 针刺治疗CIRI的研究也备受关注。临床研究证明, 针刺治疗对急性脑缺血具有较好的临床疗效, 可改善溶栓后神经功能缺损状况, 提高患者生活质量, 减少梗死后不良反应, 且具有良好的安全性^[8]; 脑卒中患者在接受静脉溶栓前进行水沟、十宣等穴位针刺治疗, 可有效控制患者血管内皮损伤、改善昏迷程度^[9]; 与单独溶栓治疗相比, 溶栓联合醒脑开窍针法可改善急性脑梗死患者血凝、神经递质指标, 减轻CIRI^[10]。课题组前期研

基金项目: 国家自然科学基金(81874508, 82274662); 湖南省自然科学基金(2021JJ30490); 湖南省研究生科研创新课题(CX20220799); 长沙市科技局自然科学基金(kq2014094); 湖南中医药大学研究生创新课题(2022CX97; 2022CX103)

✉ 通讯作者: 314587702@qq.com

究发现,针刺“百会”“水沟”“大椎”可减轻 CIRI 模型大鼠患侧局灶性损伤,其机制与抗凋亡、促血管新生等有关^[11-12]。本研究主要以针刺调控 circRNAs 的表达为切入点,进一步阐明针刺抗 CIRI 的机制,以丰富针刺干预 CIRI 的临床依据。本实验经湖南中医药大学实验伦理委员会批准,编号:LL2021081203。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 39 只,6 周龄,体质量 200~230 g,湖南中医药大学实验动物中心提供,实验动物合格证号:SCXK(湘)2020-0004。饲养于 SPF 级实验动物房,湿度 40%~60%,室温 22~26℃,普通饲料饲养,12 h 光照/黑暗循环,适应期 7 天。

1.2 主要试剂和仪器

线栓(0.32±0.02)mm(北京西浓科技发展有限公司,货号 2432-100);TTC 溶液(索莱宝生物科技有限公司,批号 G3004);水合氯醛(MACKLIN 公司,批号 C121951);多聚甲醛(中国医药集团有限公司,货号 10010061);circRNA 芯片标记试剂盒(货号 Human circRNA Array V2)、circRNAs 芯片(规格 8x15K),美国 Arraystar 公司;HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis 试剂盒(批号 R312-01)、AceQ Universal SYBR qPCR Master Mix(批号 Q511-02),南京诺唯赞生物科技有限公司。

无菌毫针(0.25 mm×13 mm,苏州针灸用品有限公司,批号 210501);扫描仪(美国 Agilent 公司,型号 G2505C);立体定位仪(成都泰盟科技有限公司,型号 DW-5);照相机(日本尼康公司,型号 NIKONDS-U3)。

1.3 动物模型制备

造模前 24 h 禁食,自由饮水。采用线栓法并改良^[13]复制大鼠大脑中动脉栓塞模型:大鼠腹腔注射水合氯醛(0.3 ml/100 g)麻醉后,造模组颈部备皮、消毒后沿正中做一条约 10 mm 纵行切口,并分离皮下组织和颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉,结扎近心端处颈总动脉和颈外动脉,沿颈总动脉结扎处上方剪一小口,从切口处插入并微有阻力时停止(栓线黑色标记约在分叉口处),永久性结扎右侧颈内动脉,缝合,标记线栓。缺血后 2 h 取出栓线约 10 mm,从而使大鼠大脑中动脉闭塞再灌注。待大鼠生命体征平稳后(约再灌注后 2 h)采用 Longa 评分法评定,1~3 分者纳入实验^[13];同时配

合大鼠右侧脑立体定位仪检测,利用激光散斑成像系统观察血流改变情况,造模后大脑皮质局部脑血流减少,则大鼠 CIRI 模型成功。死亡和不符合要求的大鼠按前面步骤补足,最终各组以 13 只大鼠纳入统计。

1.4 分组及干预方法

采用随机数字表法选取 13 只大鼠设为假手术组,麻醉后仅分离血管。其余大鼠进行造模,将造模成功的大鼠再随机分为模型组、针刺组各 13 只。待生命体征稳定后,针刺组捆绑并参考文献[14-15]针刺“百会”“大椎”“水沟”穴,平补平泻,留针 30 min,每 15 min 捻转 1 次,共针刺 7 次。假手术组和模型组大鼠只捆绑不针刺。

1.5 指标检测及方法

1.5.1 神经功能缺损评分 分别在针刺前后采用 Garcia 评分法^[16]对神经功能损伤症状进行评估。测定大鼠自主运动、感觉等多方面功能,总分 18 分,得分越低,提示神经功能损伤越重。

1.5.2 脑梗死面积检测 最后一次针刺后采用随机数字表法选取 5 只大鼠取全脑,放入冰箱速冻约 20 min,沿冠状位切 5 片,每片厚约 2 mm,放入有 10 ml TTC 溶液的烧杯中,移入 37℃ 恒温水浴箱充分反应 10~15 min,每 5 min 翻转一次切片,操作过程中 TTC 溶液需避光。用照相机拍片并用 Image pro plus 6.0 测定脑梗死面积比,计算公式参考 Swanson 法^[17]。计算公式:IS%=(S1-Sr)/2×S1×100%(IS%:脑梗死面积百分比;S1:脑片健侧总面积;Sr:脑片患侧非梗死区面积)。

1.5.3 CircRNA 微阵列芯片分析 最后一次针刺后采用随机数字表法选取 3 只大鼠于冰袋上分离患侧海马组织迅速放入液氮冻存。芯片操作步骤:检测 RNA 样本质量,用 NanoDrop 测定样本的 RNA 浓度和纯度,样本总 RNA 用 Rnase 处理以富集 circRNAs,引物扩增并转录,样本标记和阵列杂交,制备切片,用 G2505C 型扫描仪扫描切片并分析数据。利用 Agilent Feature Extraction 软件(11.0.1.1 版)从扫描图像里提取原始数据,采用 R 软件 limma 包进行分位数归一化等一系列数据处理,以 $P \leq 0.05$ 、 $|\log_2 \text{FC}| \geq 1.5$ 为筛选标准选取差异基因。

1.5.4 qRT-PCR 验证差异基因表达量 根据差异基因筛选结果,选取共表达差异基因 $|\log_2 \text{FC}| \geq 1.5$ 最高的差异基因进行验证。每组用随机数字表法取 5 只大鼠患侧海马组织迅速放入液氮冻存。参照说明书操作方法提取 RNA 合成 cDNA,差异基因引物

由上海生工生物工程有限公司合成,用引物(rno-circRNA-011989:上游引物:5'ACTTCGGTATCAC-CAACAG3';下游引物:5'ATGACGGAAGCTGGGC-ATG3')建立PCR反应体系,进行反转录和qPCR检测,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算差异基因表达量。

1.6 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析,服从正态分布的计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,若方差齐者采用单因素方差分析,两两比较选择LSD法,组内比较采用配对 T 检验,方差不齐者用Tamhane's T^2 或Dunnnett's T^3 法;不服从正态分布的计量资料以中位数和四分位间距 $[M(Q)]$ 行统计描述,采用非参数检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。数据利用Graphpad Prism 6.0软件作图。

2 结果

2.1 各组大鼠针刺前后神经功能缺损评分比较

表1示,针刺前,与假手术组比较,模型组、针刺组大鼠神经功能缺损评分明显降低($P<0.01$)。针刺后,模型组大鼠神经功能缺损评分显著低于假手术组($P<0.05$);与模型组比较,针刺组大鼠神经功能缺损评分提高($P<0.05$)。组内针刺前后比较,模型组和假手术组神经功能缺损评分差异无统计学意义($P>0.05$),针刺组神经功能缺损评分提高($P<0.05$)。

表1 各组大鼠针刺前后神经功能缺损评分比较

Table 1 Comparison of Neurological Deficit Scores in Each group before and after Acupuncture (分, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	针刺前	针刺后
假手术组	13	18.00 $\pm$ 0.00	18.00 $\pm$ 0.00
模型组	13	13.50 $\pm$ 1.37 ^{a)}	13.14 $\pm$ 1.09 ^{a)}
针刺组	13	13.27 $\pm$ 1.98 ^{a)}	15.08 $\pm$ 2.16 ^{b) c)}

注: a) 与假手术同时间比较, $P<0.01$; b) 与模型组同时间比较, $P<0.05$; c) 与本组针刺前比较, $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠脑梗死面积比较

表2示,假手术组大鼠未出现脑梗死。与模型组比较,针刺组脑梗死面积比显著减小($P<0.05$)。

2.3 各组大鼠患侧海马组织中circRNAs差异表达分析结果

共筛选出差异表达circRNAs 42 095个,模型组/假手术组共有差异表达14 025个,其中上调7580个,下调6445个;针刺组/假手术组共有差异表达14 035个,其中上调7221个,下调6814个;

表2 各组大鼠脑梗死面积比较

Table 2 Comparison of Cerebral Infarction Ratio in Each Group (% , $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	脑梗死面积比
假手术组	5	0
模型组	5	22.85 $\pm$ 6.35
针刺组	5	14.86 $\pm$ 1.62 ^{a)}

注: a) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

针刺组/模型组共有差异表达14 035个,其中上调6383个,下调7652个。

以 $P\leq 0.05$ 、 $|\log_2 FC|\geq 1.5$ 为标准,筛选出两组组间差异表达的circRNAs,然后将差异表达的circRNAs进行组间比较,详见表3。模型组/假手术组共有差异表达circRNAs 215个,其中有59个差异表达在CIRI海马组织中上调,156个差异表达下

表3 各组大鼠海马组织中差异表达circRNAs情况

Table 3 Differential Expression of CircRNAs in the Hippocampus of Rats in Each Group

组间比较	CircRNA	$P\leq 0.05$	$ \log_2 FC \geq 1.5$	趋势
模型组/假手术组	rno_circRNA_010789	0.0126	4.4961	↑
	rno_circRNA_010684	0.0041	4.2098	↑
	rno_circRNA_008973	0.0101	3.8720	↑
	rno_circRNA_000136	0.0176	3.7712	↑
	rno_circRNA_014924	0.0099	3.7430	↑
	rno_circRNA_008964	0.0022	3.6674	↑
	rno_circRNA_008980	0.0103	3.5689	↑
	rno_circRNA_003860	0.0173	3.5568	↑
	mmu_circRNA_25320	0.0352	3.4402	↑
	rno_circRNA_008686	0.0236	3.4322	↑
	rno_circRNA_012247	8.5899	2.5688	↓
	rno_circRNA_012248	0.0003	2.3088	↓
	rno_circRNA_012249	0.0006	2.1522	↓
	rno_circRNA_010510	0.0395	2.0821	↓
	mmu_circRNA_43563	0.0212	2.0537	↓
	rno_circRNA_009396	0.0288	2.0329	↓
	rno_circRNA_016218	0.0054	1.9548	↓
	rno_circRNA_008066	0.0156	1.9142	↓
	rno_circRNA_009204	0.0113	1.8965	↓
	rno_circRNA_008566	0.0417	1.8715	↓
针刺组/假手术组	rmno_circRNA_008979	0.0202	1.5585	↑
	rno_circRNA_008972	0.0153	1.6184	↓
	rno_circRNA_008968	0.0338	1.6178	↓
	rno_rno_circRNA_008960	0.0333	1.6061	↓
	rno_circRNA_01621	0.0425	1.5587	↓
针刺组/模型组	rno_circRNA_011989	0.0254	1.5796	↑
	rno_circRNA_009775	0.0192	1.5649	↑

注: 模型组与假手术组比较上调和下调的circRNA各选择排名前10位的,按 $\log_2 FC$ 值从高到低排序。

调（表 3 中只列出上调和下调排位前 10 位的 circRNAs）；针刺组/假手术组共有差异表达 circRNAs 5 个，其中 1 个差异表达上调，4 个差异表达下调；针刺组/模型组共有差异表达 circRNAs 2 个，均上调。模型组/假手术组与针刺组/模型组共表达的差异基因有 2 个，分别为 circ-011989 和 circ-009775。

2.4 各组大鼠患侧海马组织 circ-011989 表达量比较

本实验选取共表达差异基因 $\log_2 \text{FCI} \geq 1.5$ 最高的差异基因 circ-011989 进行验证。表 4 示，与假手术组比较，模型组患侧海马组织 circ-011989 表达量明显降低 ($P < 0.05$)；与模型组比较，针刺组患侧海马组织 circ-011989 的表达量升高 ($P < 0.05$)。

表 4 各组大鼠患侧海马组织 circ-011989 表达量比较
Table 4 Comparison of Circ-011989 Expression in Hippocampus Tissue of Rats in Each Group
[$2^{-\Delta\Delta Ct}$, $M(Q)$]

组别	鼠数	circ-011989 表达量
假手术组	5	0.77 (0.24)
模型组	5	0.34 (0.40) ^{a)}
针刺组	5	1.35 (0.38) ^{b)}

注：a) 与假手术组比较， $P < 0.05$ ；b) 与模型组比较， $P < 0.05$ 。

3 讨论

CIRI 是恢复缺血性脑卒中患者缺血组织血氧供应后的继发性损伤，海马体是边缘系统的一部分，参与认知领域的形成，是反映 CIRI 情况最为敏感的部位^[18]。CIRI 归属于中医学“中风”范畴，主要由于情志失调、饮食不节、劳力所伤以及气候环境变化等诱因导致气血逆乱，上犯于脑，脑之神明失用。在本为阴阳两虚、气血亏虚、脾肾两虚、肝肾阴虚，在标为风火相煽、痰湿壅盛、瘀血阻滞、气血逆乱。历代医家多有推崇“督脉痹阻”是中风发病的经络学基础^[19]。百会、大椎、水沟均是督脉要穴。百会居人体高位，为祛风要穴，善治一切内外之风，文献研究发现，汉至清末中风病针灸腧穴处方中，督脉为最常用经脉，百会穴为使用最频繁的穴位^[20]。大椎善治五劳七伤之虚证，针刺该穴可协调阴阳生长^[21]。水沟是中风后口眼歪斜病症常用穴^[22]。三穴配伍可醒脑调神、祛风补虚。针刺大椎、百会、水沟穴即可协调全身阴阳，又可统率全身气血，促进 CIRI 患者神经功能恢复。本研究结果显示，与假手术组比较，模型组大鼠神经功能缺损评分显著下降，且脑组织出现梗死区，表示大鼠造模成功。针刺后，针刺组大鼠神经功能

缺损评分显著提高，脑梗死面积比下降，提示针刺可改善 CIRI 神经功能缺损，减少梗死面积比，发挥脑保护作用。

近年来研究发现，circRNAs 广泛参与神经细胞的生理病理过程，可能与 CIRI 过程中神经细胞的自噬、凋亡相关^[23]。CircRNAs 微阵列芯片检测可以一次性对样品大量序列进行分析，与以往单个基因研究相比，有助于同时对大量的遗传信息进行快速、高效地分析。本研究共筛选出差异表达 circRNAs 42 095 个，模型组/假手术组共有差异表达 14 025 个，针刺组/假手术组共有差异表达 14 035 个，针刺组/模型组共有差异表达 14 035 个，说明海马内确实存在大量的 circRNAs，且针刺可调控大鼠海马组织 circRNAs 的表达。以 $P \leq 0.05$ 、 $\log_2 \text{FCI} \geq 1.5$ 为标准，筛选出模型组/假手术组与针刺组/模型组共表达的 circRNAs 2 个，分别为 circ-011989 和 circ-009775。由此可知针刺“大椎”“百会”“水沟”穴可精准调控少量 circRNAs 抗 CIRI，且可以逆转 CIRI 后下调的 circ-011989 和 circ-009775。本实验选取共表达差异基因 $\log_2 \text{FCI} \geq 1.5$ 最高的差异基因 circ-011989 进行验证，结果显示，与假手术组比较，模型组大鼠缺血侧海马区 circ-011989 表达量明显降低，针刺组 circ-011989 的表达量增加，与 circRNAs 芯片检测结果一致，故推测 circ-011989 在抗 CIRI 中发挥了重要作用。

综上，针刺“大椎”“百会”“水沟”穴可改善 CIRI 大鼠神经功能缺损症状，降低脑梗死面积比，其机制可能与上调 circ-011989 的表达量有关。但本实验暂未涉及 circ-011989 的功能及其与相应 miRNA 的结合、下游靶蛋白之间的关系，以上机制还需进一步深入研究。

参考文献

[1]GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. Lancet, 2020, 396 (10258):1204–1222.
[2]孙海欣,王文志. 中国 60 万人群脑血管病流行病学抽样调查报告[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2018, 18(2): 83–88.
[3]HU JD, WANG JJ, GE G, et al. Effects of noggin-transfected neural stem cells on neural functional recovery and underlying mechanism in rats with cerebral ischemia reperfusion injury[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2017, 26(7): 1547–

- 1559.
- [4] CHAABANE M, ANDREEVA K, HWANG JY, et al. seekCRIT: detecting and characterizing differentially expressed circular RNAs using high-throughput sequencing data[J]. PLoS Comput Biol, 2020, 16(10): e1008338.
- [5] EBBESEN KK, KJEMS J, HANSEN TB. Circular RNAs: identification, biogenesis and function [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1859(1): 163-168.
- [6] PHANIENDRA A, JESTADI DB, PERIYASAMY L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases [J]. Indian J Clin Biochem, 2015, 30(1): 11-26.
- [7] 禹文峰. CircRNA4736通过“海绵状”吸附 miR-206 调控 Seipin 介导的线粒体自噬在缺血性脑卒中再灌注损伤的分子机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(6): 409-410.
- [8] 代玲玲, 徐榛敏, 梁晓, 等. 近三年针刺治疗急性缺血性脑卒中随机对照试验中结局指标现状分析[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(12): 2949-2962.
- [9] 周虹, 覃机勇. 中医针刺急救技术对脑卒中患者神经功能及血管内皮损伤的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(22): 5440-5443.
- [10] 陈佳, 张琦, 陶红, 等. 醒脑开窍针法联合阿替普酶治疗急性脑梗死疗效及对血栓弹力图指标、神经递质的影响[J]. 上海针灸杂志, 2020, 39(6): 651-656.
- [11] 何灏龙, 郑慧娥, 高音来, 等. 针刺加亚低温对 MCAO 大鼠缺血侧海马组织 miRNA 归属通路及 mir-34c-5p 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(5): 42-47.
- [12] 蒋素容, 武姿含, 高音来, 等. 针刺大椎、百会、水沟穴对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 p-VEGF 蛋白表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(11): 1262-1266.
- [13] LONGA EZ, WEINSTEIN PR, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [14] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 314.
- [15] 华兴邦, 周浩良. 大鼠穴位图谱的研制[J]. 实验动物与动物实验, 1991(1): 1-5.
- [16] 乔琳, 胡彬, 常明则, 等. 两种神经功能评分评价大鼠局灶性脑缺血模型的初步研究[J]. 山西医科大学学报, 2012, 43(12): 893-895.
- [17] SWANSON RA, MORTON MT, TSAO-WU G, et al. A semiautomated method for measuring brain infarct volume [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1990, 10(2): 290-293.
- [18] 易陈菊. 胶质细胞缝隙连接通讯与局灶性脑缺血后海马损伤关系的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
- [19] 程南方, 谭峰. 中风病“肾-肝-脑”轴及针刺督脉治疗研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(8): 1824-1826.
- [20] 陈楚云, 李丽霞, 李伟林, 等. 基于数据挖掘技术分析古籍中风病腧穴处方规律[J]. 上海针灸杂志, 2017, 36(12): 1494-1499.
- [21] 王亚飞, 曹利超, 柳佳彤, 等. 基于数据挖掘分析百会、大椎穴的临床应用[J]. 山东中医杂志, 2018, 37(3): 216-219.
- [22] 刘岩. 水沟穴古代文献应用分析[J]. 上海针灸杂志, 2017, 36(9): 1139-1141.
- [23] 黄静妍. 缺血性脑卒中风痰瘀阻证环状 RNA 表达谱研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2018.

Effect of Needling at “Baihui” (GV 20), “Shuigou” (GV 26) and “Dazhui” (GV 14) on Differential CircRNAs Expression in the Hippocampus Cerebral Ischemia Reperfusion Injury Model Rats

TANG Hong¹, WANG Hongjuan¹, JIANG Shanshan¹, LYU Qianyi², WANG Yao¹, XIE Canming¹, LI Yanping¹, TIAN Haomei¹, CHEN Chutao¹

1. School of Acupuncture, Moxibustion and Tuina, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, 410208; 2. Chengdu Second People's Hospital, Sichuan Province

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of needling at Dazhui (GV 14), Baihui (GV 20) and Shuigou (GV 26) in the treatment of cerebral ischemia reperfusion injury (CIRI) from the perspective of hippocampus gene expression. **Methods** Thirty-nine SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, and acupuncture group with 13 rats in each group. The CIRI model in rats was established by suture method in the model group and acupuncture group. After modelling, the sham operation group and model group were only bundled without needling, while the acupuncture group was bundled and treated by needling at Dazhui, Baihui and Shuigou with 30 min of needle retention and performing twirling method every 15 min, using even supplementation and drainage method, once every 12 h, 7 times altogether. The neurological deficit scores were evaluated before and after treatment. TTC staining was used to detect the status of cerebral infarction after treatment. The circRNAs micro-

array chip was used to analyze differential circRNAs expression in the hippocampus tissue of the ischemic side of CIRI rats, and qRT-PCR was used to verify it. **Results** Before treatment, the neurological deficit score of model group and acupuncture group were lower than that of the sham operation group ($P < 0.01$); after treatment, the neurological deficit score of acupuncture group significantly increased, and was higher than that of the model group ($P < 0.05$). Compared to that of the model group, the cerebral infarction ratio in the acupuncture group was reduced ($P < 0.05$). CircRNA microarray analysis showed that 215 circRNAs were differentially expressed in the model group/sham operation group, including 59 up-regulated and 156 down-regulated ones. Five circRNAs were differentially expressed in the acupuncture group/sham operation group, of which one was up-regulated and four were down-regulated. Compared with the model group, there were 2 up-regulated circRNAs in acupuncture group. There were two differential genes co-expressed in the model group/sham operation group and the acupuncture group/model group, namely circ-011989 and circ-009775. The differential gene circ-011989 with the highest co-expression differential gene $|\log_2 FC| \geq 1.5$ was selected for verification. The results showed that compared to that in the sham operation group, the expression of circ-011989 in the model group decreased ($P < 0.05$); compared to that in the model group, the expression of circ-011989 increased in acupuncture group ($P < 0.05$). **Conclusion** Needling at “Baihui”, “Shuigou” and “Dazhui” can improve the neurological defect score and reduce the cerebral infarction ratio of CIRI model Rats. The mechanism may be related to the regulation of the expression of circ-011989 in the ischemic side hippocampus.

Keywords cerebral ischemia reperfusion injury; acupuncture; neurological deficit; cerebral infarct size; circRNAs; hippocampus

(收稿日期: 2022-07-27; 修回日期: 2022-09-30)

[编辑: 邓媛]

广告

欢迎订阅 2023 年《中医杂志》

《中医杂志》(ISSN 1001-1668, CN 11-2166/R)是由中华中医药学会和中国中医科学院主办的全国性中医药综合性学术期刊。1955 年创刊以来始终坚持“以提高为主, 兼顾普及”的办刊方针, 是我国中医药界创刊早、发行量大、具有较高权威性和学术影响力的国家级中医药期刊之一, 是中文核心期刊和科技核心期刊、中国精品科技期刊、首届国家期刊奖获得者和中国期刊方阵双奖期刊、新中国 60 年有影响力的期刊、中国百强科技期刊、中国百种杰出学术期刊, 中医药科技期刊分级目录 T1 级期刊。荣获第五届中国出版政府奖期刊奖, 第二届、第三届、第四届中国出版政府奖期刊奖提名奖。

《中医杂志》主要栏目中当代名医和临证心得分别介绍名老中医和临床医生辨证用药治疗疑难病的经验; 临床研究介绍中医药治疗的新方法、新成果; 学术探讨、思路与方法、循证中医药、病例讨论、综述、百家园等栏目, 提供最新学术观点、研究成果与治疗方法, 成为学习中医药、研究中医药, 不断提高临床及研究水平的良师益友。

《中医杂志》为半月刊, 每月 2 日和 17 日出版, 每期定价 30.00 元, 全年 720 元。国内读者可以到全国各地邮局办理订阅手续(邮发代号: 2-698), 也可以与本刊读者服务部联系邮购, 邮购免邮费。电话: 010-64035632, 010-64089195。国外发行: 中国国际图书贸易集团有限公司(北京 399 信箱, 邮编: 100044, 代号: SM140)。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。

网址: <http://www.jtcm.net.cn>。

