DOI: 10. 13288/j. 11-2166/r. 2024. 23. 014

# 电针“风池”“阳陵泉”“外关”对急性偏头痛模型大鼠三叉神经血管系统PPARγ/NF-κB信号通路的影响

贺卓众[1,2]，谭磊[1,2]，曾翼翔[1,2]，周胜利[1,2]，文皓佳[1,2]，
杨阳[1,2]，涂润泽[1,2]，刘未艾[2]，何可[2]，付磊[2]✉

1. 湖南中医药大学第二附属医院，湖南省长沙市蔡锷北路233号，410005；2. 湖南中医药大学第二中医临床学院

［摘要］ **目的** 从三叉神经血管系统中过氧化物酶体增殖物激活受体γ（PPARγ）/核转录因子κB（NF-κB）通路探讨电针风池、阳陵泉、外关治疗急性偏头痛发作期的可能机制。**方法** 40只SD大鼠随机分为空白组、模型组、电针组、电针+抑制剂组、激动剂组，每组8只。除空白组外，其余各组大鼠采用炎症汤颅内导管内注射建立急性偏头痛大鼠模型。造模后30 min，电针组予0. 9%氯化钠溶液腹腔注射后电针干预“风池”“阳陵泉”“外关”30 min；电针+抑制剂组予PPARγ抑制剂T0070907（1. 5 mg/kg）腹腔注射后再予电针干预上述穴位30 min；激动剂组予PPARγ激动剂盐酸吡格列酮（10 mg/kg）腹腔注射；空白组与模型组大鼠予0. 9%氯化钠溶液腹腔注射后捆绑束缚30 min。在造模前、造模30 min后（干预前）及干预后进行行为学评分；最后一次行为学检测后，采用实时荧光定量PCR法检测大鼠硬脑膜中PPARγ、NF-κB p65 mRNA含量；蛋白印迹法检测大鼠三叉神经脊束核中PPARγ、NF-κB p65、白细胞介素6（IL-6）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）的蛋白表达；免疫荧光双标法检测大鼠三叉神经脊束核中PPARγ、NF-κB p65荧光强度。**结果** 与空白组同时间比较，其余各组大鼠造模后及干预后行为学评分均升高（$P<0.01$）。与模型组同时间比较，干预后电针组、电针+抑制剂组、激动剂组大鼠行为学评分均降低（$P<0.01$）。与电针组同时间比较，干预后激动剂组行为学评分降低，电针+抑制剂组行为学评分升高（$P<0.01$）。与空白组比较，模型组大鼠脑膜中PPARγ、NF-κB p65 mRNA表达升高，三叉神经脊束核中PPARγ、NF-κB p65、IL-6、TNF-α蛋白表达增强，PPARγ、NF-κB p65荧光强度增强（$P<0.01$）。与模型组比较，各干预组硬脑膜PPARγ mRNA表达升高、NF-κB p65 mRNA表达降低，三叉神经脊束核中PPARγ蛋白表达增强，NF-κB p65、IL-6、TNF-α蛋白表达减弱；电针组、激动剂组PPARγ荧光强度增强，各干预组NF-κB p65荧光强度均减弱（$P<0.05$或$P<0.01$）。与电针组比较，电针+抑制剂组PPARγ mRNA、蛋白表达及荧光强度降低，NF-κB p65 mRNA、蛋白表达及荧光强度升高，IL-6、TNF-α蛋白表达增强；激动剂组PPARγ mRNA、蛋白表达升高，NF-κB p65 mRNA、蛋白表达降低，IL-6、TNF-α蛋白表达降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论** 电针“风池”“阳陵泉”“外关”可减轻急性偏头痛模型大鼠发作症状，其机制可能通过上调PPARγ表达、降低NF-κB表达，从而抑制神经源性炎症反应有关。

［关键词］ 急性偏头痛；电针；风池；阳陵泉；外关；过氧化物酶体增殖物激活受体γ；核转录因子κB

**基金项目**：湖南省卫生健康委员会科研重点指导课题（C202303079147）；湖南省自然科学基金区域联合基金项目（2023JJ60337）；湖南省医学学科青年骨干人才项目（20240304123）；长沙市自然科学基金科技计划项目（kq2208198）；长沙市科学技术局指导性科技计划项目（kzd22053）；湖南中医药大学研究生创新项目（2023CX54，2024CX059，2024CX060，2024CX064）

✉ 通讯作者：fulei@126. com

偏头痛作为一种常见的神经病理性疼痛疾病，其表现多为单侧头部中重度搏动性发作性疼痛，并可合并神经功能紊乱等[1]；急性发作期患者更易发生失眠、焦虑、抑郁、急性脑卒中等，严重降低患者生活质量[2]。目前偏头痛发作期药物如阿司匹林、布洛芬等非甾体抗炎药，以及乙酰苯胺类解热镇痛药如对乙酰氨基酚等药物长期使用可能出现胃肠道不良反应、出血风险、粒细胞减少症、低血压、成瘾性等不良反应[3-5]。如何有效预防偏头痛急性发作，已成为目前研究的重点。现代研究[6-7]显示，转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体γ（PPARγ）可干扰细胞质中核转录因子-κB（NF-κB）的活化，并可直接抑制NF-κB与DNA基因启动子区域的结合和炎症基因的转录，降低白细胞介素6（IL-6）等相关炎性因子的表达，从而改善急性偏头痛发作症状。

偏头痛属于中医学“头风”“头痛”范畴。既往研究[8]发现，针刺治疗偏头痛急性发作期多选少阳经穴为主，尤以“风池”“阳陵泉”“外关”为多。相关临床研究表明，电针风池、阳陵泉、外关治疗偏头痛急性发作期具有确切的镇痛及降低发作频率的作用[9-11]。本研究从三叉神经血管系统及PPARγ/NF-κB信号通路的角度进一步探讨电针“风池”“阳陵泉”“外关”治疗偏头痛急性发作期的可能作用机制，以充分揭示从少阳论治偏头痛急性发作期的科学内涵。本实验已通过湖南中医药大学伦理委员会批准（伦理批件号：LLBH-202302100002）。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物

SPF级健康SD大鼠40只，雌雄各半，体质量200~250 g，3~4个月龄，购自湖南太平生物科技有限公司，生产许可证号：SCXK(湘)2023-0011。饲养温度20~25 ℃，湿度50%~70%，自然光照时间12 h。

### 1.2 主要试剂与仪器

PPARγ激动剂盐酸吡格列酮（货号：HY-14601）、PPARγ抑制剂T0070907（货号：HY-13202）、硫酸庆大霉素（货号：HY-A0276）、前列腺素E2（货号：HY-101952）、缓激肽（货号：HY-P0206）、组胺（货号：HY-B1204）、5-羟色胺（5-HT，货号：HY-B1473A）、磷酸盐缓冲溶液（货号：HY-K3005）、二甲基亚砜（货号：HY-Y0320）、多聚甲醛（货号：HY-Y0333）DAPI染液（货号：HY-D0814）、抗荧光淬灭封片剂（货号：HY-K1042），上海Mdchemexpress公司；戊巴比妥钠（货号：H31020240），上海上药新亚药业有限公司；SYBR快速qPCR试剂盒（货号：KM4101），美国KAPA Biosystems公司；反转录引物Oligo（dT）18 Primer（货号：3806）、PrimeSTAR反应缓冲液（货号：9158A）、反转录酶PrimeScript Ⅱ RTase（货号：2690A）、重组型RNA酶抑制剂（货号：2313A），日本TAKARA公司；脱氧核苷三磷酸底物（货号：PC2200，美国Solarbio公司）；BCA蛋白定量试剂盒（货号：A55865，美国Thermo fisher公司）；总蛋白提取试剂盒（货号：RS0024）、山羊抗小鼠IgG（货号：RS23710）、山羊抗兔IgG（货号：RS23920）、actin单克隆抗体（货号：YM3028）、GAPDH单克隆抗体（货号：YM3029）、HRP羊抗兔（货号：RS0002）、HRP羊抗鼠（货号：RS0001）、即用型鼠兔通用二抗（货号：RS0011）、远红外荧光二抗（货号：RS23910）、PBST洗涤缓冲液（货号：RS0018）、Tris缓冲盐溶液（货号：RS0023），美国Immunoway公司；牛血清白蛋白（货号：BS043E）、封闭用驴血清（货号：BL939A）、无DNase/RNase水（货号：BL510A），美国Biosharp公司；自发荧光淬灭剂（货号：AWI0125），长沙艾碧维生物科技公司；PPARγ一抗（货号：AF6284）、NF-κB p65一抗（货号：AF5006）、IL-6一抗（货号：DF6087）、TNF-α一抗（货号：AF7014），美国Affinity公司。

一次性针灸针（0.18 mm×13 mm），吴江市云龙医疗器械有限公司；电子针疗仪（6805-D型），汕头市医疗设备厂有限公司；电子天平（AE323型），上海舜宇恒平科学仪器有限公司；高速冷冻离心机（Icen-24R型），杭州奥盛仪器有限公司；荧光定量PCR仪（Quant Studio5型），美国Thermo Fisher公司；荧光成像仪（Odyssey型），美国LICOR公司；电泳转膜槽（Mini Trans-Blo型）、垂直电泳槽（Mini-Protean型），上海伯乐电子有限公司；脱色摇床仪（TS-92型），美国Vniwersal shaker公司；酶标仪（SpectraMax M5E型），美国Molecular Devices公司；微量分光光度仪（NanoDrop 2000型），美国Thermo公司；石蜡病理切片机（RM2016型），上海徕卡仪器有限公司；组织摊片机（KD-P型），浙江金华市科迪仪器设备有限公司；组化笔（D1008E型），美国Beyotime公司；正置荧光显微镜（NIKON ECLIPSE C1型）、荧光成像系统（NIKON DS-U3型），日本尼康公司。

1.3 动物分组及模型制备

适应性饲养1周后，采用随机数字表法将大鼠分为空白组、模型组、电针组、电针+抑制剂、激动剂组，每组8只。除空白组外其余各组大鼠参照既往文献研究[12]，予炎症汤（前列腺素E2、缓激肽、组胺、5-HT均1 μmol/L的磷酸盐缓冲溶液）颅内导管注射造模，而空白组予等量0.9%氯化钠溶液颅内导管注射。造模方法：将大鼠1%戊巴比妥钠40 mg/kg腹腔注射麻醉固定后，在前囟后囟连线中点右侧5 mm处钻开一小孔，避免破坏硬脑膜并埋置导管以牙科水泥固定。在导管置入手术后予7天的恢复期，期间肌肉注射硫酸庆大霉素（0.04万IU/100 g，1 ml/100 g），每日1次，连续7天以预防感染。待大鼠恢复后，单次向导管内缓慢注入10 μl炎症汤。造模后进行大鼠挠头、爬笼、咬尾、往返活动等行为学评分[13]，总分显著高于正常大鼠，差异有统计学意义则证明造模成功。

1.4 干预方法

电针组在造模后30 min予0.9%氯化钠溶液腹腔注射，捆绑束缚后行电针治疗30 min。取穴定位参照《实验针灸学指导》[14]取双侧“风池”（寰椎翼前缘的直上方凹陷内）、“外关”（大鼠前肢外侧尺、桡骨间，距腕关节3 mm处）、“阳陵泉”［距后三里（大鼠膝关节下侧腓骨小头下约5 mm）上外侧5 mm］。针刺方法：将大鼠束缚固定在固定台上，针刺时以一次性针灸针在“风池”向后下方斜刺2~3 mm、“外关”直刺2 mm、“阳陵泉”直刺6 mm，平补平泻，以180°捻转角度进行刺激，捻转频率为120次/min，持续捻转约1 min；行针结束后，连接电子针疗仪导线的正负极，将双侧的“外关”接取正极、“阳陵泉”接取负极，采用疏密波（5 Hz/30 Hz）、强度0.5 mA进行刺激，刺激强度以大鼠四肢规律性抖动为准，电针刺激时间为30 min。

电针+抑制剂组取PPARγ抑制剂T0070907粉末溶于1%二甲基亚砜溶液后，按照1∶3比例溶于0.9%氯化钠溶液，配置成浓度为0.375 mg/ml的T0070907混合液，造模后30 min以1.5 mg/kg腹腔注射，注射后30 min予电针组相同的干预方式。

激动剂组以2%二甲基亚砜溶液中加入PPARγ激动剂盐酸吡格列酮粉末，配置成浓度为10 mmol/ml的吡格列酮混合液，造模后30 min以10 mg/kg腹腔注射后捆绑束缚30 min。

空白组和模型组同时间予0.9%氯化钠溶液腹腔注射后捆绑束缚30 min。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 行为学检测 各组大鼠在造模前、造模30 min后（干预前）及干预后进行行为学评分，观察大鼠挠头、咬尾、爬笼和往返运动次数的总和，每次持续观察30 min，每个行为出现1次计1分[11]。

1.5.2 实时荧光定量PCR法检测大鼠硬脑膜中PPARγ及NF-κB p65 mRNA含量 各组大鼠最后一次行为学检测后，用2%戊巴比妥钠（40 ml/kg）腹腔注射麻醉，脱颈处死后断头，剪开头皮，暴露颅骨，用小咬骨钳以枕骨大孔为入口将大鼠枕骨去掉，并进一步扩大创口，使大脑表面完整暴露，剥离硬脑膜及三叉神经脊束核，用冰生理盐水及PBS反复冲洗后用4%多聚甲醛固定，-80 ℃保存备用。

称取100 mg大鼠硬脑膜组织样本，依次经过总RNA提取、反转录反应与荧光定量PCR反应。反应体系：总RNA（500 ng）、10 mmol/L脱氧核苷三磷酸底物（2 μl）、PrimeSTAR反应缓冲液（4 μl）、40 U/μl重组型RNA酶抑制剂（1 μl）、反转录引物Oligo（dT）18 Primer（1 μl）、200 U/μl反转录酶PrimeScript Ⅱ RTase(1 μl)，以及加入无DNase/RNase水至20 μl。扩增条件：以95 ℃的条件预变性3 min，然后依次按照95 ℃ 5 s、56 ℃ 10 s、72 ℃ 25 s的条件循环40次。按照每5 s升温0.3 ℃的规律，绘制从60 ℃升温至95 ℃熔解曲线。用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因相对表达量。引物由武汉华联科生物技术有限公司合成，引物序列：PPARγ，上游CACTCCCATTCCTTTGAC，下游TCGCACTTTGGTATTCTT，扩增片段大小151 bp；NF-κB p65，上游CTGCTTACGGTGGGATTG，下游TTCTTTCTCAGGGGGATTC，扩增片段大小149 bp；GAPDH，上游CAAGTTCAACGGCACAG，下游CCAGTAGACTCCACGACAT，扩增片段大小138 bp。

1.5.3 蛋白印迹法检测大鼠三叉神经脊束核中PPARγ、NF-κB p65、IL-6、TNF-α蛋白表达 取冻存100 mg大鼠硬脑膜组织样本，加入裂解液，在组织充分裂解后离心取裂解组织上清液，使用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。在蛋白样品中加入蛋白缓冲液，煮沸冷却后离心获得待测蛋白样品。经电泳、转膜、封闭、漂洗后，根据目的蛋白位置进行剪裁并分别置于NF-κB p65、PPARγ、IL-6、TNF-α蛋白一抗（均1∶1000，5%TBST缓冲液稀释）稀释液中以4 ℃的条件摇床孵育过夜后用5%TBST缓冲液洗膜6 min、重复5次后加入远红外荧光二抗（1∶10 000，5%TBST缓冲液稀释）室温摇床1 h，

室温下再次重复5次5%TBST缓冲液6 min摇洗后置于暗盒中，后予曝光、显影。使用Gel-Pro 4.0分析软件进行灰度值分析，以β-actin为内参，结果以目标蛋白的累计光密度（IOD）值与β-actin的IOD值的比值表示。

1.5.4 免疫荧光双标法检测三叉神经脊束核PPARγ、NF-κB p65阳性表达 将多聚甲醛固定后的大鼠硬脑膜组织制作石蜡切片（厚度40 μm），经过二甲苯脱蜡、乙醇水化、洗片、抗原修复、10%驴血清封闭后，滴加一抗（PPARγ 1∶200、NF-κB p65 1∶200），切片平放于湿盒内4 ℃孵育过夜。滴加二抗（山羊抗兔IgG 1∶500、山羊抗小鼠IgG 1∶500），避光室温孵育50 min，摇床洗涤后滴加DAPI染液，避光室温孵育10 min，最后加入自发荧光淬灭剂5 min，流水冲洗10 min，用抗荧光淬灭封片剂封片。切片于荧光显微镜下观察并采集图像。采用Image J 1.51j8进行分析，计算平均荧光强度值。

1.6 统计学方法

采用SPSS 26.0、Graph Pad 8.0统计软件进行统计，计量资料满足正态分布以均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，方差齐性多组间比较采用单因素方差分析，两两比较用LSD法；方差不齐时用Tamhane $T^2$法。计量资料不满足正态分布时用中位数（四分位间距）表示，采用Kruskal-Wallis检验。以$P<0.05$为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠不同时间行为学评分比较

表1示，造模前各组大鼠行为学评分差异均无统计学意义（$P>0.05$）。与空白组同时间比较，其余各组大鼠造模后及干预后行为学评分均升高（$P<0.01$）。与模型组同时间比较，干预后电针组、电针+抑制剂组、激动剂组大鼠行为学评分均降低（$P<0.01$）。与电针组同时间比较，干预后激动剂组行为学评分降低，电针+抑制剂组评分升高（$P<0.01$）。与电针+抑制剂组同时间比较，激动剂组行为学评分值降低（$P<0.01$）。

2.2 各组大鼠硬脑膜中PPARγ、NF-κB p65 mRNA表达水平比较

表2示，与空白组比较，其余各组大鼠硬脑膜中PPARγ mRNA表达升高，模型组、电针+抑制剂组NF-κB p65 mRNA表达升高，激动剂组NF-κB p65 mRNA表达降低（$P<0.01$）。与模型组比较，电针组、电针+抑制剂组、激动剂组PPARγ mRNA表达升高，NF-κB p65 mRNA表达降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。与电针组比较，电针+抑制剂组PPARγ mRNA表达降低、NF-κB p65 mRNA表达升高，激动剂组PPARγ mRNA表达升高、NF-κB p65 mRNA表达降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。与电针+抑制剂组比较，激动剂组PPARγ mRNA表达升高，NF-κB p65 mRNA表达降低（$P<0.01$）。

**表1** 各组大鼠不同时间行为学评分比较

Table 1 Comparison of behavioural scores of rats in different groups at different times （分，$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | 鼠数 | 造模前 | 造模后 | 干预后 |
|---|---|---|---|---|
| 空白组 | 8 | 5.25±1.04 | 5.88±0.83 | 5.50±0.93 |
| 模型组 | 8 | 6.13±1.13 | 34.00±2.45[a)] | 33.25±3.33[a)] |
| 电针组 | 8 | 5.00±0.93 | 31.38±2.39[a)] | 19.13±1.96[a)b)] |
| 电针+抑制剂组 | 8 | 4.88±0.99 | 33.13±3.18[a)] | 21.50±2.39[a)b)c)] |
| 激动剂组 | 8 | 5.25±0.89 | 30.88±4.52[a)] | 15.63±2.00[a)b)c)d)] |

注：a）与空白组同时间比较，$P<0.01$；b）与模型组同时间比较，$P<0.01$；c）与电针组同时间比较，$P<0.01$；d）与电针+抑制剂组同时间比较，$P<0.01$。

**表2** 各组大鼠硬脑膜中PPARγ、NF-κB p65 mRNA表达水平比较

Table 2 Comparison of PPARγ，NF-κB p65 mRNA expression levels in dura mater of rats in each group（$2^{-\Delta\Delta Ct}$，$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | 鼠数 | PPARγ mRNA | NF-κB p65 mRNA |
|---|---|---|---|
| 空白组 | 8 | 1.00±0.00 | 1.00±0.00 |
| 模型组 | 8 | 1.19±0.09[a)] | 3.03±0.12[a)] |
| 电针组 | 8 | 1.65±0.11[a) b)] | 0.96±0.19[b)] |
| 电针+抑制剂组 | 8 | 1.32±0.05[a) c) d)] | 1.73±0.14[a) b) e)] |
| 激动剂组 | 8 | 2.75±0.17[a) b) e) f)] | 0.82±0.08[a) b) d) f)] |

注：PPARγ，转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体γ；NF-κB p65，核转录因子-κB p65。

a）与空白组比较，$P<0.01$；b）与模型组比较，$P<0.01$；c）与模型组比较，$P<0.05$；d）与电针组比较，$P<0.05$；e）与电针组比较，$P<0.01$；f）与电针+抑制剂组比较，$P<0.01$。

2.3 各组大鼠三叉神经脊束核中PPARγ、NF-κB p65、IL-6、TNF-α蛋白表达水平比较

表3示，与空白组比较，其余4组大鼠三叉神经脊束核中PPARγ、IL-6、TNF-α蛋白表达增强（$P<0.01$），模型组、电针+抑制剂组NF-κB p65蛋白表达增强（$P<0.01$），激动剂组NF-κB p65蛋白表达减弱（$P<0.05$）；与模型组比较，电针组、电针+抑制剂组、激动剂组PPARγ蛋白表达增强，NF-κB p65、IL-6、TNF-α蛋白表达减弱（$P<0.01$）；与电针组比较，电针+抑制剂组PPARγ表达减弱（$P<0.01$），NF-κB p65、IL-6、TNF-α蛋白表达增强（$P<0.01$），激动剂组IL-6、TNF-α蛋

表 3　各组大鼠三叉神经脊束核中 PPARγ、NF-κB p65、IL-6、TNF-α 蛋白表达水平比较

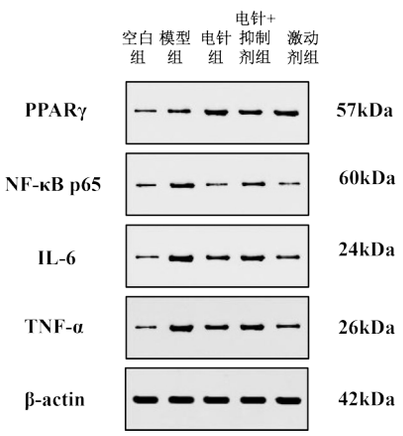
Table 3　Comparison of PPARγ，NF-κB p65，IL-6，and TNF-α protein expression levels in spinal trigeminal nucleus of rats in each group　（/β-actin，$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | 鼠数 | PPARγ | NF-κB p65 | IL-6 | TNF-α |
|---|---|---|---|---|---|
| 空白组 | 8 | 0. 27±0. 04 | 0. 31±0. 04 | 0. 23±0. 04 | 0. 18±0. 02 |
| 模型组 | 8 | 0. 43±0. 04[a)] | 0. 66±0. 05[a)] | 0. 87±0. 07[a)] | 0. 86±0. 09[a)] |
| 电针组 | 8 | 0. 74±0. 05[a) c)] | 0. 29±0. 02[c)] | 0. 56±0. 09[a) c)] | 0. 49±0. 07[a) c)] |
| 电针+抑制剂组 | 8 | 0. 62±0. 08[a) c) d)] | 0. 44±0. 05[a) c) d)] | 0. 73±0. 08[a) c) d)] | 0. 67±0. 08[a) c) d)] |
| 激动剂组 | 8 | 0. 71±0. 04[a) c) e)] | 0. 26±0. 05[b) c) e)] | 0. 35±0. 06[a) c) d) e)] | 0. 34±0. 06[a) c) d) e)] |

注：PPARγ，转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体γ；NF-κB p65，核转录因子-κB p65；IL-6，白细胞介素 6；TNF-α，肿瘤坏死因子α。

a）与空白组比较，$P<0.01$；b）与空白组比较，$P<0.05$；c）与模型组比较，$P<0.01$；d）与电针组比较，$P<0.01$；e）与电针+抑制剂组比较，$P<0.01$。

白表达减弱（$P<0.01$）；与电针+抑制剂组比较，激动剂组 PPARγ 蛋白表达增强（$P<0.01$），NF-κB p65、IL-6、TNF-α 蛋白表达减弱（$P<0.01$）。各组大鼠三叉神经脊束核中 PPARγ、NF-κB p65、IL-6、TNF-α 蛋白电泳图见图 1。




注：PPARγ，转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体γ；NF-κB p65，核转录因子-κB p65；IL-6，白细胞介素 6；TNF-α，肿瘤坏死因子α。

图 1　各组大鼠三叉神经脊束核中 PPARγ、NF-κB p65、IL-6、TNF-α 蛋白电泳图

Figure 1　Electrophoresis of PPARγ，NF-κB p65，IL-6，and TNF-α proteins in spinal trigeminal nucleus of rats in each group

### 2. 4　各组大鼠三叉神经脊束核中 PPARγ、NF-κB p65 平均荧光强度比较

表 4 示，与空白组比较，其余 4 组大鼠三叉神经脊束核中 PPARγ 荧光强度增强，模型组、电针+抑制剂组 NF-κB p65 荧光强度增强（$P<0.01$）。与模型组比较，电针组、激动剂组 PPARγ 荧光强度增强，各干预组 NF-κB p65 荧光强度均减弱（$P<0.01$）。与电针组比较，电针+抑制剂组 PPARγ 荧光强度减弱、NF-κB p65 荧光强度增强（$P<0.01$）。与电针+抑制剂组比较，激动剂组 PPARγ 荧光强度增强、NF-κB p65 荧光强度减弱（$P<0.01$）。各组大鼠三叉神经脊束核中 PPARγ 及 NF-κB p65 免疫荧光图见图 2。

表 4　各组大鼠三叉神经脊束核中 PPARγ 及 NF-κB p65 平均荧光强度比较

Table 4　Comparison of the mean fluorescence intensity of PPARγ and NF-κB p65 in spinal trigeminal nucleus of rats in each group　（$\bar{x}\pm s$）

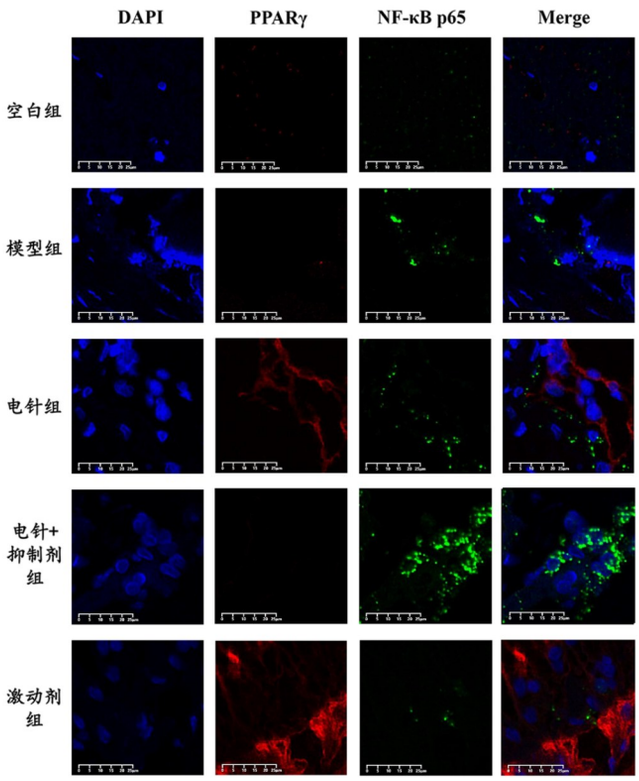
| 组别 | 鼠数 | PPARγ | NF-κB p65 |
|---|---|---|---|
| 空白组 | 8 | 70. 06±2. 97 | 70. 7±5. 32 |
| 模型组 | 8 | 83. 04±4. 17[a)] | 96. 94±2. 32[a)] |
| 电针组 | 8 | 101. 36±2. 55[a) b)] | 72. 89±2. 07[b)] |
| 电针+抑制剂组 | 8 | 85. 78±6. 30[a) c)] | 89. 91±2. 83[a) b) c)] |
| 激动剂组 | 8 | 101. 96±10. 05[a) b) d)] | 77. 38±3. 94[b) d)] |

注：PPARγ，转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体γ；NF-κB p65，核转录因子-κB p65。

a）与空白组比较，$P<0.01$；b）与模型组比较，$P<0.01$；c）与电针组比较，$P<0.01$；d）与电针+抑制剂组比较，$P<0.01$。

## 3　讨论

偏头痛属于少阳经病，病位在脑。《针灸大成》中载风池穴“主洒淅寒热……偏正头痛”，可见风池穴自古为偏头痛治疗要穴[15]；外关为三焦经络穴，通阳维脉，具有理气活血止痛作用；阳陵泉为胆经合穴，《灵枢·邪气脏腑病形》载“病在上取之下”“合治内腑”，阳陵泉又为筋会，有舒筋通络之功。本研究采用电针干预偏头痛急性发作期，而风池、阳陵泉、外关作为治疗急性偏头痛的高频穴位[16-17]，对于急性偏头痛发作的治疗具有确切疗效。本课题组前期研究[18-20]表明，电针少阳经特定穴“风池”“外关”“阳陵泉”可改善偏头痛大鼠行为学表现，下调 5-HT、神经肽物质 P（SP）、内皮素（ET）、一氧化氮（NO）、降钙素基因相关肽




注：PPARγ表达以红色荧光标记，NF-κB p65表达以绿色荧光标记，细胞核（DAPI）以蓝色荧光标记。PPARγ，转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体γ；NF-κB p65，核转录因子-κB p65。

**图2** 各组大鼠三叉神经脊束核中PPARγ及NF-κB p65免疫荧光图

Figure 2 Immunofluorescence of PPARγ and NF-κB p65 in spinal trigeminal nucleus of rats in each group

（CGRP）等血管活性物质的表达水平，但具体机制尚不明确。相关研究[21]表明，三叉神经系统的无菌性神经源性炎症是导致偏头痛发作的重要原因，炎症反应沿着三叉神经传入纤维传至三叉神经脊束核尾部，通过丘脑传至大脑皮质，导致痛觉的产生；此外三叉神经通路信号传递促使受三叉神经支配的脑膜伤害性感受器的激活和敏化，出现脑膜神经源性炎症，导致搏动性头痛的发生。此外颅内痛觉敏感组织如脑血管、脑膜血管和静脉窦及其血管周围神经纤维和三叉神经可能是偏头痛发病的生理基础和痛觉传导通路[22]，而NF-κB的激活在偏头痛发作过程中起到关键作用[23]。NF-κB作为一种真核细胞内介导细胞信号传递的基因多向性信号快反应转录因子[24]，当炎症及生长因子等刺激因素存在时，激活IκB激酶（IKK）介导NF-κB抑制蛋白（IκB）的磷酸化，导致IκB降解、NF-κB转运至细胞核内并活化，促进NF-κB依赖的靶基因的转录及细胞因子释放，参与神经系统的多种生理及病理过程[25-26]。作为炎症信号的汇合点，NF-κB参与多种炎症介质如IL-6、TNF-α等炎性因子的表达与调控，能够激活早期炎性反应信号通路，诱发神经源性炎症及三叉神经致敏，最终导致偏头痛发作[27-28]。

PPARγ是核受体超家族的代表性成员，参与调节脂质代谢、免疫反应和细胞增殖过程，属于可被配体激活的转录因子蛋白，具有强大的组织保护和抗炎特性，是连接代谢和炎症的关键核受体。PPARγ可通过干扰细胞质中NF-κB的活化，直接抑制NF-κB与DNA基因启动子区域的结合，抑制炎症基因的转录[4]，以及诱导NF-κB p65复合物降解、协同p65亚基由细胞核向胞质转运的作用，并能与共转录因子竞争性作用于NF-κB途径，从而降低IL-6、TNF-α等下游信号分子的表达水平，进而减轻炎症反应、氧化应激及细胞凋亡，调控神经源性炎症反应，参与急性偏头痛发作期的保护机制[29-32]。

为验证电针干预对PPARγ的影响，本研究设立了电针+PPARγ抑制剂T0070907组、PPARγ激动剂盐酸吡格列酮组。本实验研究发现，与空白组比较，其余4组大鼠行为学评分、IL-6、TNF-α表达升高。与模型组比较，电针组、激动剂组大鼠行为学评分、NF-κB p65、IL-6、TNF-α表达降低，PPARγ表达升高，表明电针干预偏头痛可改善大鼠偏头痛症状，可能与上调PPARγ表达、降低NF-κB表达，从而改善炎症反应有关；与电针组比较，电针+抑制剂组PPARγ表达降低，行为学评分、NF-κB p65、IL-6、TNF-α表达升高，表明电针干预与PPARγ抑制剂联用后，电针上调PPARγ表达、降低NF-κB表达的作用被部分逆转。综上所述，电针干预可抑制急性偏头痛发作期神经源性炎症反应，可能与上调PPARγ表达，从而降低NF-κB表达有关。

综上所述，电针特定少阳经穴可抑制急性偏头痛发作期大鼠神经源性炎症反应的发生、进展，可能与通过上调PPARγ表达，降低NF-κB表达，抑制神经源性炎症反应有关。本研究为电针特定少阳经穴干预急性偏头痛发作期发生的提供了证据，对推动针灸干预偏头痛急性发作期的临床应用具有积极意义。然而，本实验未进一步探索不同时间段电针干预偏头痛急性发作期对PPARγ/NF-κB通路的影响，有待后续进一步研究。

## 参考文献

[1]中国医师协会神经内科医师分会，中国研究型医院学会

头痛与感觉障碍专业委员会. 中国偏头痛急性期治疗指南(第一版)[J]. 中国疼痛医学杂志,2024,30(10):721-734.

[2]TAKESHIMA T, WAN Q, ZHANG Y, et al. Prevalence, burden, and clinical management of migraine in China, Japan, and South Korea: a comprehensive review of the literature[J]. J Headache Pain, 2019, 20(1):111.

[3]KIRTHI V, DERRY S, MOORE RA. Aspirin with or without an antiemetic for acute migraine headaches in adults [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2013(4):CD008041.

[4]RABBIE R, DERRY S, MOORE RA. Ibuprofen with or without an antiemetic for acute migraine headaches in adults [J]. Cochrane Database Sy st Rev, 2013 (4): CD008039.

[5]DERRY S, MOORE RA. Paracetamol (acetaminophen) with or without an antiemetic for acute migraine headaches in adults [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2013 (4): CD008040.

[6]JU Z, SU M, LI D, et al. An algal metabolite-based PPAR- agonist displayed anti-inflammatory effect via inhibition of the NF-κB pathway [J]. Mar Drugs, 2019, 17 (6):321.

[7]刘苏丽,肖明明,何秋,等. 罗格列酮对硝酸甘油诱导偏头痛大鼠的保护作用[J]. 中国临床神经科学,2014,22(1):70-74.

[8]罗妮莎,周文珠,王悦,等. 针刺治疗偏头痛急性期动物实验研究的要素分析及思考[J]. 上海针灸杂志,2021,40(1):112-119.

[9]张慧,胡幼平,吴佳,等. 电针少阳经穴对急性偏头痛即时镇痛作用时效规律研究[J]. 中国针灸,2015,35(2):127-131.

[10]曹丽翠,王磊,贾红云,等. 苯甲酸利扎曲普坦联合针灸治疗急性发作期偏头痛61例[J]. 中国老年学杂志,2015,35(10):2766-2767.

[11]阳晶晶,刘昭,刘密,等. 针刺少阳经特定穴对偏头痛急性发作即时效应不同时程总体疗效缓解率评定的临床研究[J]. 中华中医药杂志,2014,29(1):194-197.

[12]陶禹,孙玉芳,张园等. 偏头痛动物模型研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志,2023,29(10):766-773.

[13]YAO G, LUO XD, MA DH, et al. Midbrain enkephalin expression in a rat migraine model following intragastric scorpion powder administration [J]. Neural Regeneration Research, 2011, 6(12):903-907.

[14]郭义,赵雪. 实验针灸学实验指导[M]. 5版. 北京:中国中医药出版社,2021.

[15]刘爽,王爱成,刘春燕,等.《针灸大成》中风池穴临床应用探析[J]. 中医文献杂志,2023,41(2):15-18.

[16]文亚,王丹,范刚启. 针刺治疗急性期偏头痛的穴位选择[J]. 中国针灸,2018,38(11):1183-1188.

[17]寇任重,陶腊梅,刘岚青,等. 针刺治疗偏头痛急性期优选研究的现状及思考[J]. 中医杂志,2018,59(4):348-351,357.

[18]王乾娜,刘秋佳,叶意红,等. 不同时期电针少阳经特定穴对偏头痛大鼠血清中5-HT及SP含量的影响[J]. 时珍国医国药,2019,30(11):2795-2798.

[19]刘秋佳,叶意红,王乾娜,等. 电针少阳经穴对偏头痛大鼠行为学、50%缩足阈值及血清ET、NO、CGRP含量的影响[J]. 中华中医药杂志,2019,34(11):5428-5432.

[20]王乾娜,刘秋佳,叶意红,等. 电针少阳经特定穴与非经非穴对偏头痛大鼠血清中相关神经递质及50%缩足阈值的影响[J]. 时珍国医国药,2018,29(11):2802-2804.

[21]王佳. 三叉神经通路中CGRP介导针刺缓解大鼠偏头痛的作用机制研究[D]. 北京:中国中医科学院,2019.

[22]HAANES KA, EDVINSSON L. Pathophysiological mechanisms in migraine and the identification of new therapeutic targets[J]. CNS Drugs, 2019 33(6):525-537.

[23]张芹, 齐丹丹, 张忠玲. 核转录因子-κB信号通路在偏头痛发病机制中的相关研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2016, 43 (1): 87-90.

[24]POZNIAK PD, WHITE MK , KHALILI K. TNF-alpha / NF-kappa B signaling in the CNS : possible connection to EPHB 2 [J]. J Neu-roimm Pharmacol, 2014, 9 (2): 133-141.

[25]OECKINGHAUS A, HAYDEN MS, GHOSH S. Crosstalk in NF-κB signaling pathways[J]. Nat Immunol, 2011, 12 (8):695-708.

[26]LEE HJ, SEO HS, KIM GJ, et al. Houttuynia cordata Thunb inhibits the production of pro-inflammatory cytokines through inhibition of the NF-κB signaling pathway in HMC-1 human mast cells[J]. Mol Med Rep, 2013 , 8 (3):731-736.

[27]YANG S, CHEN C, LIU X. Xiongshao Zhitong Recipe attenuates nitroglycerin-induced migraine-like behaviors via the inhibition of inflammation mediated by nitric oxide synthase[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 920201. doi: 10. 3389/fphar. 2022. 920201.

[28]梅海云,杨晓苏. 核因子-κB 抑制剂对偏头痛患者血清培养正常人单核细胞株表达的血清促炎细胞因子的影响[J]. 国际神经病学神经外科学杂志,2010,37(3):215-217.

[29]HUANG R, ZHANG C, WANG X, et al. PPARγ in ischemia-reperfusion injury: overview of the biology and therapy[J]. Front Pharmaco1, 2021, 12: 600-618. doi: 10. 3389/fphar. 2021. 600618.

[30]EL-SAYYAD SM, SOUBH AA, AWAD AS, et al. Mangiferin protects against intestinal ischemia/reperfusion-

induced liver injury: involvement of PPAR-γ, GSK-3β and Wnt/β-catenin pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2017, 8(9):80-86.

[31]LIU C, DING R, HUANG W, et al. Sevoflurane protects against intestinal ischemia-reperfusion injury by activating peroxisome proliferator-activated receptor gamma/nuclear factor-κB pathway in rats[J]. Pharmacology, 2020, 105(3/4):231-242.

[32]LIU Y, WANG J, LUO S, et al. The roles of PPARγ and its agonists in autoimmune diseases: a comprehensive review[J]. J Autoimmun, 2020, 113: 102510. doi: 10.1016/j. jaut. 2020. 102510.

## Effects of Electroacupuncture at "Fengchi" (GB 20), "Yanglingquan" (GB 34) and "Waiguan" (TE 5) on PPARγ/NF-κB Signalling Pathway in Trigeminal Vascular System in Acute Migraine Model Rats

HE Zhuozhong[1,2], TAN Lei[1,2], ZENG Yixiang[1,2], ZHOU Shengli[1,2], WEN Haojia[1,2], YANG Yang[1,2], TU Runze[1,2], LIU Wei´ai[2], HE Ke[2], FU Lei[2]

1. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, 410005; 2. The Second Clinical School of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine

**ABSTRACT** **Objective** To investigate the possible mechanism of electroacupuncture at Fengchi (GB 20), Yanglingquan (GB 34) and Waiguan (TE 5) for acute migraine attacks by peroxisome proliferator-activated receptor γ/nuclear transcription factor-κB pathway in the trigeminal neurovascular system. **Methods** Forty SD rats were randomly divided into blank group, model group, electroacupuncture group, electroacupuncture plus inhibitor group, and agonist group, 8 rats in each group. Except for the blank group, rats were injected with inflammation decoction intracranial catheter to establish rat models of acute migraine. Thirty minutes after modelling, the electroacupuncture group was given 0.9% NaCl solution by intraperitoneal injection and then electroacupuncture at "Fengchi" (GB 20), "Yanglingquan" (GB 34), and "Waiguan" (TE 5) for 30 mins; the electroacupuncture plus inhibitor group was given PPARγ inhibitor T0070907 (1.5 mg/kg) and eclectroacupuncture as the above for 30 mins; the agonist group was given PPARγ inhibitor pioglitazone hydrochloride (10 mg/kg) for 30 mins. Rats in the blank group and the model group were injected intraperitoneally with 0.9% NaCl solution and then bound and restrained for 30 mins. Behavioural scores were evaluated before modelling, 30 mins after modelling (pre-intervention) and post-intervention; after the last behavioural test, PPARγ, NF-κB p65 mRNA content in rat dura mater was detected by real-time fluorescence quantitative PCR; protein expression of PPARγ, NF-κB p65, interleukin 6 (IL-6), tumour necrosis factor α (TNF-α) in spinal trigeminal nucleus of rats was detected by protein blotting; immunofluorescence double-labelling method was used to detect the fluorescence intensity of PPARγ, NF-κB p65 in spinal trigeminal nucleus of rats. **Results** Compared with the blank group at the same time, the behavioural scores of rats in the remaining groups increased after modelling and after intervention ($P<0.01$). Compared with the model group at the same time, the behavioural scores of rats in the electroacupuncture group, electroacupuncture plus inhibitor group, and agonist group decreased after the intervention ($P<0.01$). Compared with the electroacupuncture group at the same time, behavioural scores reduced in the agonist group and elevated in the electroacupuncture plus inhibitor group after intervention ($P<0.01$). Compared with the blank group, expression of PPARγ and NF-κB p65 mRNA elevated in the dura mater of rats in the model group, and expression of PPARγ, NF-κB p65, IL-6, and TNF-α protein enhanced in spinal trigeminal nucleus, and the fluorescence intensity of PPARγ and NF-κB p65 enhanced ($P<0.01$). Compared with the model group, PPARγ mRNA expression in dura mater elevated and NF-κB p65 mRNA expression reduced in each intervention group, PPARγ protein expression in spinal trigeminal nucleus enhanced, and NF-κB p65, IL-6, and TNF-α protein expression weakened; in the electroacupuncture group and the agonist group, PPARγ fluorescence intensity enhanced, and the fluorescence intensity of NF-κB p65 weakened in each intervention group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the electroacupuncture group, in the electroacupuncture plus inhibitor group, PPARγ mRNA, protein expression and fluorescence intensity reduced, NF-κB p65 mRNA, protein expression and fluorescence intensity elevated, and IL-6 and TNF-α protein expression enhanced; in the agonist group, PPARγ mRNA and protein expression elevated, NF-κB p65 mRNA and protein expression reduced, and IL-6 and TNF-α protein expression decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** Electroacupuncture at "Fengchi" (GB 20), "Yanglingquan" (GB 34) and "Waiguan" (TE 5) can can reduce the symptoms of acute migraine attacks in rats, and its mechanism may be related to the up-regulation of PPARγ expression and the reduction of NF-κB expression, thus inhibiting the neurogenic inflammatory response.

**Keywords** acute migraine; electroacupuncture; Fengchi (GB 20); Yanglingquan (GB 34); Waiguan (TE 5); peroxisome proliferator-activated receptor γ; nuclear transcription factor-κB

(收稿日期：2024-07-14；修回日期：2024-09-24)

[编辑：邓 媛]