

• 综 述 •

电针治疗脊髓损伤动物实验研究进展*

孙忠人¹, 卢英琦¹, 胡其回¹, 张 森², 尹洪娜^{2△}

(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 目的 总结电针治疗脊髓损伤(SCI)作用机制的动物实验研究进展。方法 检索近5年中国知识资源总库(中国知网,CNKI)、万方数据、维普网及PubMed、Web of Science中发表的有关单纯电针为主要治疗方案的文献,对其中治疗脊髓损伤动物模型方面的实验研究文献进行归纳总结。结果 通过23篇相关文献,发现电针治疗SCI的作用机制主要为抑制炎症反应、改善微循环、促进营养因子分泌、抑制细胞凋亡等。结论 电针可以从SCI发病的多个病理机制方面阻断SCI继发性损伤加剧,但需临床进一步研究。

关键词: 电针;脊髓损伤;动物实验;效应机制

中图分类号: R245.97

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2021)03-0089-09

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2021.03.015

Progress in Animal Experiments of Electroacupuncture Treatment of Spinal Cord Injury

SUN Zhongren¹, LU Yingqi¹, HU Qihui¹, ZHANG Miao², YIN Hongna²

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. The Second Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150001, China)

ABSTRACT: **Objective** To summarize the progress of animal experiments on the mechanism of electroacupuncture for spinal cord injury. **Methods** The literature about experimental research of simple electroacupuncture for spinal cord injury animal models has been searched out from CNKI, VIP, Wanfang, PubMed, and Web of Science in the past 5 years. It is summed up according to the literature. **Results** Through 23 related literature, it has found that the mechanism of electroacupuncture in the treatment of SCI mainly inhibits inflammation, improves microcirculation, promotes the secretion of nutritional factors, and inhibits cell apoptosis. **Conclusion** Electroacupuncture can block the consequential of secondary damage of SCI from multiple pathological mechanisms, but further research is needed.

KEY WORDS: electroacupuncture; spinal cord injury; animal experiment; mechanism

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是世界范围内常见的具有高度致死性和致残性的中枢神经系统疾病^[1],包括原发性机械损伤和由复杂病理生理改变介导的继发性损伤。据统计,每年SCI全球发病人数高达25~50万^[2]。目前SCI主要治疗方法包括手术、药物、激素治疗、行为治疗、物理治疗等^[3-6],但由于这些疗法存在潜在并发症以及本病复杂的病理生理学

特点,使越来越多脊髓损伤患者开始选择针灸等替代疗法^[7]。

SCI分子和生化改变与水肿、缺血、细胞凋亡、微循环障碍、胶质瘢痕形成、炎症反应等密切相关^[8-9],对损伤后的微环境造成严重的后果,而这对中枢神经系统再生过程至关重要。既往研究表明,电针作为针灸特色疗法的一种,在对脊髓损伤及其并发症治

收稿日期: 2021-05-06

* 基金项目: 国家中医药管理局中医药循证能力建设项目(2019XZZX-ZJ005);黑龙江中医药大学优秀创新人才支持计划-领军人才支持项目(2018RCL01);黑龙江中医药大学校基金杰出培育基金(2018jc04);国家自然科学基金(81873378)

第一作者简介: 孙忠人(1960-),男,主任医师,研究方向:中医治疗神经系统疾病。

△通信作者: 尹洪娜, E-mail: yhn1232021@qq.com

疗中,包括运动障碍、神经性疼痛、痉挛、脊髓空洞症等,疗效显著,有助于患者远期神经和功能恢复^[10-13],为临床应用提供了循证依据。日前,业内在探讨电针对脊髓损伤潜在分子机制的影响方面,争论激烈,各种假说林立纷繁,动物实验系统验证其具体发病机理的关键锁钥。现通过对电针治疗脊髓损伤动物实验研究文献总结分析,探求电针疗法作用靶点,为临床诊治、选穴提供稳固依据,并对电针治疗 SCI 的机制研究进行展望。

1 资料与方法

1.1 检索方式 选用近 5 年中国知识资源总库(中国知网,CNKI)、万方数据、维普网及 PubMed、Web of Science 中发表的有关单纯电针为主要治疗方案治疗脊髓损伤动物模型方面的实验研究文献。在检查筛选时,采用主题词和自由词结合的检索方式。中文检索词分别为“脊髓损伤”“截瘫”“电针”“电针疗法”“动物模型”“实验研究”等,英文检索词为“spinal cord injury”“paraplegia”“electroacupuncture”“animal model”“experimental study”等。

1.2 纳入标准 ①文献发表年限为 2016 年 6 月 1 日至 2021 年 4 月 1 日;②研究类型为动物实验研究文献,文种限中文、英文;③干预措施为单纯电针的治疗方式为主疗法。

1.3 排除标准 ①个人经验总结、研究进展、文献综述、临床实验的文献;②全文不完整文献;③没有采用电针治疗或存在 2 种以上干预措施的文献;④硕博学位论文及会议论文;⑤无具体观察指标;⑥重复发表的临床研究,纳入文献质量较高的 1 篇;⑦采用功能性核磁共振、正电子发射计算机断层显像(PET)的方法观察针刺治疗脊髓损伤动物模型效应的文献。

1.4 文献筛选结果 根据上述检索词检索后共得到相关文献 422 篇,剔除不相干和重复文献 139 篇后,依据纳排标准对剩余文献进行详细阅读总结后,共纳入 23 篇相关文献,其中中文 17 篇,英文 6 篇。

2 结果

经研究结果显示,电针治疗 SCI 动物实验研究腧穴配伍频率最高的为大椎-命门及夹脊穴,出现频次前两位的分别为大椎、夹脊穴。针刺干预 SCI 作用机制主要为抑制炎症反应、改善微循环、抑制细胞凋亡、促进髓鞘再生作用等方面。结果见表 1。

3 电针治疗脊髓损伤作用机制

3.1 电针抑制炎症反应 SCI 中的炎症反应具有双向保护和损伤作用,波及到神经与免疫两大系统^[37],受微环境局部轴突再生和损伤神经元修复限制、血-脊髓屏障破坏、外周血白细胞与先天免疫细胞(小胶质和星形胶质细胞)共同作用,在数小时内上调 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎因子浓度,这些介质对中枢神经系统细胞产生细胞毒作用,导致小胶质细胞和巨噬细胞脱髓鞘和神经元丢失^[38-39]。电针夹脊穴可以调控嘌呤受体 P2X7(P2X7R)和核苷酸结合寡聚化结构样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体表达,进而阻断炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 释放^[14],调节高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、Toll 样受体 4(TLR4)水平^[17],下调 Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 表达^[24]。NLRP3 炎症小体作为一种胞浆蛋白复合物,在神经元、小胶质细胞和星形胶质细胞中均有表达^[40],抑制 NLRP3 激活可控制神经炎症,减轻线粒体功能障碍,P2X7R 是激活 NLRP3 最有效的因子之一,同时与 Caspase-1、IL-1 释放密切相关^[41],阻断 P2X7R-NLRP3 炎症信号通路,为脊髓继发性损伤恢复提供治疗新靶点。HMGB1 在 SCI 后从坏死细胞被动释放,血清和胞浆浓度明显上升,并通过晚期糖基化终末产物受体-核因子 κ B(RAGE-NF- κ B)信号通路,将小胶质细胞极化为促炎表型^[42],引起下游炎性因子释放。TLR4 作为 Toll 样受体中与 HMGB1 最密切因子,会诱导 NF- κ B 和环氧化酶-2(COX-2)水平上调^[43],抑制 HMGB1/TLR4 可发挥抗炎、保护神经功效。电针大椎、腰阳关、双侧次髂、足三里可抑制胞浆型磷脂酶 A2(c PLA2)、降低前列腺素 E(PGE)含量^[29]。c PLA2 和 PGE 是 Nogo/NgR 和下游 Rho/Rock 的前炎症反应因子,可加速促炎反应。

3.2 电针改善微循环,促进营养因子分泌 成年中枢神经系统脊髓损伤后,轴突不可再生,这归因于血管周围功能、结构损伤的互相影响^[44],及周围局部环境既缺乏生长促进因子、又包含许多生长抑制因子。即使轴突再生,也很难与正确的突触后神经元链接,进而恢复正常功能。理想的再生环境包含高浓度神经生长因子的存在,这些因子能克服抑制影响,引导轴突到达适当靶点,并对非受损群体无负面影响。神经生长因子家族包括神经生长因子(NGF)、脑源性神经

表 1 针灸治疗 SCI 的动物实验研究汇总

研究文献	造模方法	方法	治疗疗程	取穴	作用机制	语种
刘玲玲 2021 ^[14]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 3 周	夹脊穴	调节 P2X7R/NLRP3 炎症信号通路	中文
代 攀 2021 ^[15]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 14d	夹脊穴	抑制内质网应激激活和调控自噬	中文
Yin HN 2021 ^[16]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 7d	夹脊穴	调节溶酶体功能和自噬	英文
赵鸿娣 2021 ^[17]	钳夹法	电针	每日 1 次,共 14d	夹脊穴	HMGB1、TLR4 和小胶质细胞	中文
Xu HY 2021 ^[18]	完全横切法	电针	隔日 1 次,共 2 周	脊中、至阳、腰俞、长强	上调 CGRP/αCaMKII/NT-3 通路	英文
刘 静 2020 ^[19]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 28d	脊中、命门	抑制钙蛋白酶活性,调节 Ca ²⁺ 稳定状态	中文
李艳红 2020 ^[20]	改良 Allen's 撞击法	电针	隔日 1 次,共 6 周	百会、风府、命门、大椎	促进神经营养因子表达	中文
魏卫兵 2020 ^[21]	钳夹法	电针	治 5 休 2,共 24d	足三里、伏兔	抑制细胞凋亡	中文
胡 蓉 2020 ^[22]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 14d	夹脊穴	促进少突胶质前体细胞增殖	中文
吴 凡 2020 ^[23]	钳夹法	电针	治 5 休 2,共 24d	足三里、伏兔	抑制细胞凋亡	中文
付 豪 2020 ^[24]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 7d	夹脊穴	调节促炎因子	中文
杜晓伟 2020 ^[25]	完全横切法	电针	每日 1 次,共 14d	夹脊穴	促进巨噬细胞吞噬能力	中文
张鸿升 2020 ^[26]	钳夹法	电针	治 5 休 2,共 5 周	足三里、伏兔	促进脊髓内血管新生	中文
朱 斌 2019 ^[27]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 7d	肝俞、脾俞	促进神经营养因子表达	中文
Xiao WP 2019 ^[28]	打击法	电针	每日 1 次,共 14d	大椎、腰阳关、 次髂(双)、足三里	调节 Rho/ROCK 通路	英文
闵友江 2018 ^[29]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 14d	大椎、腰阳关、 次髂(双)、足三里	调节促炎因子	中文
黄志强 2018 ^[30]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 7d	长强	促进神经营养因子表达	中文
李晓宁 2018 ^[31]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 28d	夹脊穴	调节 Rho/ROCK 通路	中文
时素华 2017 ^[32]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 7d	大椎、命门	调节 Raf/Ras/ERK 通路	中文
吕 威 2017 ^[33]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 7d	大椎、命门	调节 JNK 信号通路	中文
Zhang J 2017 ^[34]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 14d	大椎、命门	上调 Wnt/β-catenin 通路	英文
Mo YP 2016 ^[35]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 7d	大椎、命门	促进神经营养因子表达	英文
Wang X 2016 ^[36]	改良 Allen's 撞击法	电针	每日 1 次,共 14d	大椎、命门	上调 Wnt/β-catenin 通路	英文

营养因子(BDNF)和神经营养素 3(NT-3) 3 类。均可与原肌球蛋白受体激酶(Trk)受体和泛神经营养素(P75NTR)受体结合^[45],激活或上调下游信号通路如磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)、磷脂酶 C-γ(PLC-γ)、GTP 结合蛋白(RAS)/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等^[46],在神经元存活、轴突生长及突触可塑性中占据重要地位。电针百会、风府、命门、大椎能上调 BDNF、NT-3mRNA 及蛋白水平^[20]。电针肝俞、脾俞可促进 SCI 后 BDNF、NGF 和 NT-3 表达,增强运动功能恢复^[27]。电针长强穴可调控 NGF 和 BDNF 水平^[30]。BDNF 与 TrkB 受体结合对损伤神经元有保护和

促生长作用,促进轴突再髓鞘形成^[47],并在一定程度上减轻谷氨酸诱导细胞凋亡^[48]。NGF 能维持和促进神经元存活,并诱导感觉神经元轴突的生长^[49]。电针大椎、命门可上调 NT-3 水平,对脊髓周围环境有保护作用^[35]。NT-3 与 TrkC 受体高亲和^[50],可防止神经轴突退化,促进神经发育再生。通过电针脊中、至阳、腰俞、长强四穴可激活 CGRP/αCaMKII/NT-3 信号通路,触发 NT-3 合成及分泌,增强脊髓内源生长能力,加强轴突再生^[18]。

但由于 SCI 继发损伤会造成大量神经元死亡,仅仅依靠神经营养因子自身表达很难发挥最优效果,需

要对神经营养因子进行有效调控。抑制轴突生长髓鞘相关抑制因子(MALs),主要包括轴突生长抑制因子(Nogo)、髓鞘相关糖蛋白(MAG)和少突胶质细胞髓鞘糖蛋白(OMgp) 3 类^[51],其受体 NgR 含量的增多有助于神经恢复,减轻炎症。电针夹脊穴可促进 NgR 表达,提高巨噬细胞吞噬能力^[25]。此外,电针伏兔、足三里可以上调缺氧诱导因子 1 α 、血管内皮生长因子的 mRNA 及蛋白的表达,为构建良好的血氧微环境提供依据^[26]。

3.3 电针抑制细胞凋亡,增强神经修复 细胞凋亡会造成损伤脊髓功能障碍,探索细胞凋亡特异性分子途径有利于脊髓损伤的治疗和恢复。

3.3.1 调节内质网应激和自噬 内质网应激(ERS)是凋亡关键性途径之一。内质网主要包括粗面和光面两种,参与蛋白质平衡的各个方面,对维持细胞功能和内环境稳态有着不可或缺的作用。若局部出现缺氧缺血、病毒细菌感染、温度变化等生理病理改变,就会导致内质网紊乱、引发 ERS 的产生^[52],过度 ERS 会启动凋亡程序。

脊髓损伤后,由于局部微环境存在多种应激源,内质网中未折叠蛋白积累诱导未折叠蛋白反应(UPR)的激活(包含 ATF6、PERK、IRE1 3 类^[53])。内质网伴侣分子葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)是内质网应激的关键标志物,可与 UPR 结合,阻止错误折叠蛋白的输出。但长时间过度的 UPR 最终会触发细胞凋亡,启动凋亡信号分子^[54],如 CHOP、TRAF2 和 Caspase-12 等 3 个关键途径^[55],加速组织损伤速度。正常情况下 CHOP 表达量很低,但内质网应激后暴露在过量内质网应激下的少突胶质前体细胞促进 CHOP 含量增多,下调 B 细胞淋巴瘤 2(Bcl-2)基因,上调促凋亡 Bax 表达^[56-57],此外 CHOP 还可通过抑制细胞周期调节蛋白 p21 引发细胞死亡^[58]。少突胶质前体细胞(OPC)凋亡抑制再髓鞘形成,并扩大受损脊髓面积^[59]。TRAF2 可经 IRE1 集聚,激活 Caspase-12,进而激活 Caspase-9 和 Caspase-3 表达,加速细胞凋亡进程^[55]。电针夹脊穴能下调 GRP78、Caspase-12、CHOP 表达,抑制内质网应激激活^[15],并促进 OPC 增殖,对运动功能恢复提供积极作用^[22]。

自噬是细胞分解自身成分的动态平衡过程,可触发受损细胞器和错误折叠蛋白质的自我降解,形成自

噬小体,最后被溶酶体酶降解^[60]。诱导自噬可保护运动神经元免于变性,缓解 SCI 后痉挛性瘫痪,是维持中枢神经系统稳态必不可少的过程^[61]。其主要标志物 LC3-II 反映了自噬小体的数量,P62 是自噬货物蛋白,增加自噬通量。内质网应激可通过 PERK-eIF2 α 、IRE1-ASK1-JNK 和 CaMKK-腺苷酸活化蛋白激酶-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 3 条通路诱导细胞自噬^[62]。内质网应激调节是在不同应激条件下通过调节自噬和凋亡来实现细胞稳态平衡的关键过程,内质网自噬(reticulophagy)可通过消除 UPR、清除受损内质网、降解蛋白聚体等途径使蛋白正确折叠、促进内环境平衡稳定^[52]。研究显示,电针夹脊穴发现电针可以调节溶酶体功能和自噬^[16],还可以通过抑制内质网应激并激活自噬^[15],清除错误折叠蛋白,维持脊髓损伤局部内环境平衡,延缓凋亡进程。

3.3.2 调节钙蛋白酶活性 钙蛋白酶(calpain)是属于 Ca²⁺ 依赖性的非溶酶体半胱氨酸蛋白分解酶家族,可通过解靶蛋白从而控制细胞重构、分化和凋亡过程^[63]。其家族成员互为同工酶,在机体组织内广泛分布的为 calpain1 和 calpain2 两种^[64],能参与到蛋白水解、自噬、细胞凋亡等生理过程。正常情况下,calpain 在胞质内以酶原形式存活,若细胞内钙离子浓度增加,则 calpain 可通过与 Ca²⁺ 结合被激活,过量钙蛋白酶表达会引起蛋白沉积、水解蛋白结构、细胞表达失衡^[65]。SCI 后,受损局部受到缺血缺氧刺激,处于稳定状态的 Ca²⁺ 浓度失调,含量大幅度升高,造成 calpain 异常表达。钙蛋白酶在细胞凋亡中主要通过对凋亡途径调控,例如导致促凋亡基因 Bcl-2/Bax 失衡、Caspase-3 激活、溶酶体功能紊乱、线粒体功能异常等等,引发脊髓功能丧失,加重病情。calpain 裂解后会激活 Caspase-3 表达,Caspase-3 水解又会促进 calpain 活性,并阻止钙蛋白酶抑制剂的抑制作用,形成双向变化环路^[66],进一步促进凋亡。calpain 和 Caspase-3 也存在相似底物,例如细胞骨架、转录因子等,两者形成的通路在细胞凋亡方面有独特复杂作用。活化的 calpain 还可通过上调钙调神经磷酸酶(CaN)表达激活细胞凋亡^[67]。此外,SCI 损伤会上调 calpain1 mRNA 水平,但对 calpain2 表达无明显影响^[19]。calpastatin 为 calpain 抑制蛋白,可与后者结合抑制活性^[68]。研究发现,电针脊中、命门穴可上调

calpastatin,抑制 calpain1 蛋白表达,进而对脊髓损伤和运动功能起到修复和改善的作用^[19]。

3.3.3 调节凋亡相关蛋白 Bcl-2 家族蛋白是通过线粒体途径调控凋亡的重要蛋白质,它可与凋亡中的死亡受体途径共同作用调节 Caspase-3 含量,最终决定细胞凋亡与否^[69]。其最具代表性的基因为抑制凋亡因子 Bcl-2 和促凋亡因子 Bax 等。Bcl-2 可在线粒体膜上构建阳离子通道,影响细胞色素 C(Cytc)释放,发挥抑制作用,促凋亡因子 Bax 主要在细胞质内,受凋亡因子诱导时,会破坏线粒体膜的完整性,激活 Caspase,加速细胞凋亡进程。两者相反相成,协同调控,维持凋亡中的动态平衡。Bcl-2/Bax 竞争性的二聚体化过程决定细胞对凋亡信号敏感性,二者构建成平衡体系,所代表的蛋白比值决定细胞是凋亡还是存活^[70]。半胱氨酸蛋白酶(Caspase)家族也是凋亡过程中的重要参与者,目前共发现 14 种,其中 Caspase-3 与凋亡关系最为密切,通常 Caspase-3 以酶原形式在细胞内存活,需要通过转活化和非蛋白酶活化等形式被激活。前者指当刺激发生时,活化的凋亡信号会首先激活上游 Caspase 启动因子如 Caspase-8、Caspase-9 等,引起级联反应,继而启动 Caspase-3 功能,活化的 Caspase-3 会造成核酸断裂,凋亡不可逆性发展^[71]。后者则指酶原可被非蛋白酶物质如阿特拉津(ATZ)、盐霉素(SAL)等上调 Caspase-3 表达^[72]。此外,研究发现 Caspase-3 与细胞焦亡关系密切,可通过切割 gasdermin(GSDM)蛋白参与炎症反应^[73]。电针足三里、伏兔有助于降低 Caspase-3 表达^[21],同时还可上调 Bcl-2/Bax 比值^[23],减少细胞凋亡,促进损伤神经修复再生。

3.3.4 调节相关信号通路 Rho/Rock 信号通路广泛存在于神经系统中,与突触结构功能改变、神经细胞损伤修复等存在密切联系。Rho/Rock 的过度激活会导致肌球蛋白轻链磷酸化中断,继而引发神经生长锥塌陷。研究显示 SCI 后 7 d 内,在脊髓白质、灰质及星形胶质细胞和少突胶质细胞中都检测到 Rho 信号激活^[74]。说明 Rho 信号参与到调控脊髓损伤病理生理的不同方面,包括胶质瘢痕增生、神经细胞凋亡等各个方面。脊髓损伤的修复可以归因于侧支纤维的重构^[75],下调 Rho/Rock 通路表达有助于神经元的恢复。电针大椎、腰阳关、双侧次髂、足三里可以下调 Rho/Rock

信号通路,进而对髓鞘抑制因子 Nogo 及其受体 NGR、胞浆磷脂酶 A2(CPLA2)等的活性产生影响^[28]。ROCK II 是 Rho 重要的下游效应分子之一,电针夹脊穴可减轻 ROCK II 表达,减少抑制因子 RhoA 和 MLC 含量,促进神经功能恢复^[31]。

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路包括 ERK、JNK、p38MAPK 等通路,影响到炎症反应、细胞凋亡、轴突再生及缺血再灌注等各个方面^[76]。ERK 通路可磷酸化转录因子及蛋白激酶底物,调节蛋白合成及基因转录等^[77]。JNK 是一种促分裂原活化蛋白激酶,又称为 c-Jun 氨基末端激酶,可与 c-Jun 结合,参与细胞生长、发育、分化及凋亡。脊髓损伤后会出现局部磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶(p-c-Jun)的大量聚集,加重神经损伤的过程^[78]。p38MAPK 与应激情况下的炎症表达、细胞重构和细胞凋亡等有关,影响下游基因转录和翻译。电针大椎、命门穴可上调 Raf/Ras/ERK 信号通路表达^[32],降低 p-c-Jun 的表达,抑制细胞凋亡^[33],促进运动功能及神经元的修复。

Wnt/ β -catenin 信号通路是调节神经元的重要因子,Wnt 蛋白是一个信号蛋白大家族,参与脊髓神经元长轴突生长调节。 β -catenin 是其关键组成部分,被激活时,可以移位到细胞核,与转录因子相互作用,诱导靶基因表达改变,促进神经干细胞分化,并抑制其向星形胶质细胞分化^[79]。电针大椎、命门能增强 Wnt/ β -catenin 通路表达,促进细胞向脊神经元分化,增强脊髓损伤后神经元的恢复^[34,36]。

4 造模方法选择

良好的动物模型建立是保证实验成功的基础,脊髓损伤大鼠造模方法包括打击法、横切法、钳夹法等。目前临床常用的 Allen's 撞击法,是在原有方法的基础上进行改进后的动物造模方式,可引起模型脊髓水肿及缺血,与人类脊髓损伤病理生理特点类似,具有重复性,可实施性强的特点^[80]。各种方法各有利弊,需要研究者根据实验情况的需求进行相应选择。

5 讨论

当前随着研究技术的进步和治疗手段的发展,对脊髓损伤的认识也得到不断深入。本病现有的治疗手段多样,包括药物治疗、神经营养因子治疗、细胞移植、基因治疗和生物材料移植等,但由于这些手段存在治疗价格昂贵、存在后遗症等问题,使中国传统治

疗手段针灸得到越来越多的重视。临床观察、动物研究、综述表明,针灸可以有效治疗脊髓损伤后一系列并发症,包括运动和感觉障碍、疼痛、压疮、痉挛和骨质疏松等。

电针作为针灸治疗方式的一种,兼顾针刺和电流刺激的双重效应,在临床实践中得到广泛应用。根据动物实验和临床研究发现电针治疗 SCI 机制主要包括:①抗氧化和抗炎;②上调神经营养因子,促进微环境平衡;③抑制神经元凋亡;④调节相关信号通路等几方面,可显著改善脊髓损伤远期神经功能恢复,为患者提供一种风险最小的新型治疗手段。

目前研究电针治疗脊髓损伤的穴位主要以大椎-命门穴、夹脊穴为主。督脉主一身阳气,为“阳脉之海”,若督脉受损则阳气不能四布,气血运行不畅而致气滞血瘀,其循行路线与 SCI 发病部位密切相关,大椎位于第 7 颈椎棘突下,胸椎与颈椎交汇处,上撑头部,下连脊骨,有支撑椎体之效。命门为原气之所系,蕴藏先天之气,具有培补肾气、强腰健脊的效用。将电针刺激用于督脉穴,能促使经脉气血运行加速,调整阴阳、扶正祛邪。夹脊穴在脊柱旁开半寸,也可以说从属于督脉和足太阳膀胱经,深层为胸、腰神经的后支,电针夹脊穴可刺激脊神经感觉与运动纤维,并能刺激与脊神经伴行血管,实现对内部环境的基本调节。此外,尚可将足阳明胃经中的足三里、伏兔作为治疗脊髓损伤的代表穴位,取胃经多气多血、束骨而利机关之意,体现了针灸治疗多样性、灵活性的特点,值得临床借鉴。

不过本文尚存在一些不足之处,比如只纳入了单纯电针的动物模型实验,当前电针结合康复训练、电针结合干细胞移植、电针结合药物等治疗方式也越来越受到关注和研究,促进传统理论和研究在现代医学实践中的结合,中西并用共同治疗脊髓损伤,为临床提供有效选择。此外,电针治疗仍存在一些争议,需要指导原则来规范穴位、刺激频率等,未来还需要大规模、多中心的针灸试验方法。研究人员尚需提高科研能力,将传统思维与现代思想相结合,为中医治疗疾病注入新鲜动力,以更有利于中医药的现代化发展。

参考文献:

[1] THURET S, MOON L D, GAGE F H. Therapeutic inter-

ventions after spinal cord injury[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(8):628-643.

[2] KHORASANIZADEH M, YOUSEFIFARD M, ESKIAN M, et al. Neurological recovery following traumatic spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Neurosurg Spine*, 2019, 15:1-17.

[3] BREGMAN B S, COUMANS J V, DAI H N, et al. Transplants and neurotrophic factors increase regeneration and recovery of function after spinal cord injury[J]. *Prog Brain Res*, 2002, 137:257-273.

[4] CÔTÉ M P, GANDHI S, ZAMBROTTA M, et al. Exercise modulates chloride homeostasis after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(27):8976-8987.

[5] CALDERÓN-VALLEJO D, QUINTANAR-STEPHANO A, HERNÁNDEZ-JASSO I, et al. Functional and structural recovery of the injured spinal cord in rats treated with gonadotropin-releasing hormone[J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(3):455-462.

[6] YATES C, CHARLESWORTH A, ALLEN S R, et al. The onset of hyperreflexia in the rat following complete spinal cord transection[J]. *Spinal Cord*, 2008, 46(12):798-803.

[7] ROBINSON N, LORENC A, WEI D, et al. Exploring practice characteristics and research priorities of practitioners of traditional acupuncture in China and the EU-A survey[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 140(3):604-613.

[8] DAVID S, LÓPEZ-VALES R, WEE YONG V. Harmful and beneficial effects of inflammation after spinal cord injury: potential therapeutic implications[J]. *Handb Clin Neurol*, 2012, 109:485-502.

[9] BORGES R B, LIU-SNYDER P. Understanding secondary injury[J]. *Q Rev Biol*, 2012, 87(2):89-127.

[10] 吴云军, 王华军, 郑小飞, 等. 针灸治疗脊柱相关疾病的研究进展[J]. *中华针灸电子杂志*, 2020, 9(3):105-108.

[11] 余雨荷, 邓石峰, 许明, 等. 针灸治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的研究进展[J]. *中国康复理论与实践*, 2020, 26(3):355-358.

[12] 冯振奋, 周宾宾, 魏卫兵, 等. 脊髓损伤后疼痛治疗的研究进展[J]. *中国康复理论与实践*, 2019, 25(6):652-656.

[13] 傅林辉, 安军明, 张鼎, 等. 电针治疗脊髓损伤后神经源性膀胱的 Meta 分析[J]. *云南中医学院学报*, 2019, 42(3):61-68.

[14] 刘玲玲, 梅继林, 李诺, 等. 夹脊电针调控 P2X7R/NLRP3 信号通路相关因子改善脊髓损伤大鼠微环境炎症反应

- 的作用机制研究[J]. 针灸临床杂志, 2021, 37(3): 72-79.
- [15] 代攀, 黄思琴, 唐成林, 等. 电针“夹脊”穴调节细胞自噬及内质网应激对脊髓损伤小鼠的修复作用[J]. 针刺研究, 2021, 46(1): 45-51.
- [16] HONGNA Y, HONGZHAO T, QUAN L, et al. Jia -Ji electro -acupuncture improves locomotor function with spinal cord injury by regulation of autophagy flux and inhibition of necroptosis [J]. Front Neurosci, 2021, 14: 616864.
- [17] 赵鸿娣, 黄思琴, 唐成林, 等. 电针对脊髓损伤小鼠炎症因子高迁移率族蛋白 B1 及 Toll 样受体 4 表达的影响 [J]. 针刺研究, 2021, 46(4): 259-265.
- [18] XU H Y, YANG Y, DENG Q W, et al. Governor Vessel electro-acupuncture promotes the intrinsic growth ability of spinal neurons through activating calcitonin gene-related peptide/ α -calcium/calmodulin-dependent protein kinase/neurotrophin-3 pathway after spinal cord injury [J]. J Neurotrauma, 2021, 38(6): 734-745.
- [19] 刘静, 肖明中. 电针对急性脊髓损伤大鼠运动功能及钙蛋白酶表达的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45 (12): 968-972.
- [20] 李艳红, 黄志成. 电针督脉四穴组对脊髓损伤后大鼠运动及神经传导功能恢复的作用机制研究[J]. 四川中医, 2020, 38(7): 65-68.
- [21] 魏卫兵, 周宾宾, 张鸿升, 等. 电针脊髓损伤模型大鼠“足三里”与“伏兔”穴神经细胞凋亡因子 Caspase-3 的表达 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(32): 5151-5157.
- [22] 胡蓉, 陈怡, 徐海鹏, 等. 电针“夹脊”穴对急性脊髓损伤大鼠少突胶质前体细胞增殖分化的影响[J]. 中国针灸, 2020, 40(5): 519-525.
- [23] 吴凡, 许权, 周宾宾, 等. 电针刺激脊髓损伤大鼠足阳明胃经脊髓受损节段 Bax、Bcl-2 的 mRNA 和蛋白的表达 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(26): 4169-4175.
- [24] 付豪, 梅继林, 李庆琳, 等. 夹脊电针对急性脊髓损伤大鼠脊髓病理形态及组织中炎症因子表达的影响[J]. 针灸临床杂志, 2020, 36(1): 66-70.
- [25] 杜晓伟, 滕秀英, 高长乐, 等. 夹脊电针干预对大鼠脊髓损伤区巨噬细胞 NgR 表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2020, 27(1): 5-8.
- [26] 张鸿升, 魏卫兵, 周宾宾, 等. 电针干预脊髓损伤大鼠受损节段缺氧诱导因子 1 α 、血管内皮生长因子的表达[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(11): 1701-1707.
- [27] 朱斌, 关炳瑜, 贺元, 等. 电针调控大鼠脊髓损伤后灰质中 BDNF、NGF 和 NT3 的表达 [J]. 上海针灸杂志, 2019, 38(10): 1188-1194.
- [28] XIAO W P, DING L L, MIN Y J, et al. Electroacupuncture promoting axonal regeneration in spinal cord injury rats via suppression of Nogo/NgR and Rho/ROCK signaling pathway[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2019, 15: 3429-3442.
- [29] 闵友江, 周璇, 余弯, 等. “三通针法”治疗脊髓损伤大鼠的时间窗效应及对胞浆型磷脂酶 A2、前列腺素 E 的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(8): 2026-2030.
- [30] 黄志强, 刘宇, 苏昭元, 等. 电针“长强”穴对大鼠急性脊髓损伤后神经生长因子和脑源性神经营养因子表达的影响[J]. 中国针灸, 2018, 38(4): 399-404.
- [31] 李晓宁, 梁雪松, 吴磊, 等. 夹脊电针对急性脊髓损伤大鼠脊髓组织微环境 Rho-ROCK II 通路相关因子的影响 [J]. 针刺研究, 2018, 43(7): 445-449.
- [32] 时素华, 吕威, 秦丽娜, 等. 基于 Raf/Ras/ERK 信号通路探讨督脉电针对脊髓损伤 1、7d 后 MEK2、p-ERK1 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(7): 2919-2923.
- [33] 吕威, 李冰, 景泉凯, 等. 电针“大椎”“命门”对脊髓损伤大鼠神经元细胞凋亡及 JNK 信号通路相关蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2017, 42(1): 14-19.
- [34] ZHANG J F, LI S S, WU Y C. Recovery of spinal cord injury following electroacupuncture in rats through enhancement of Wnt/ β -catenin signaling[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(2): 2185-2190.
- [35] MO Y P, YAO H J, LV W, et al. Effects of Electroacupuncture at Governor Vessel Acupoints on Neurotrophin-3 in Rats with Experimental Spinal Cord Injury[J]. Neural Plast, 2016, 2016: 2371875.
- [36] WANG X, SHI S H, YAO H J, et al. Electroacupuncture at Dazhui (GV14) and Mingmen (GV4) protects against spinal cord injury; the role of the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Neural Regen Res, 2016, 11(12): 2004-2011.
- [37] HOHLFELD R, KERSCHENSTEINER M, MEINL E. Dual role of inflammation in CNS disease [J]. Neurology, 2007, 68(22 Suppl 3): S58-S63.
- [38] WANG H Y, LIU C, MEI X F, et al. Berberine attenuated pro-inflammatory factors and protect against neuronal damage via triggering oligodendrocyte autophagy in spinal cord injury[J]. Oncotarget, 2017, 8(58): 98312-98321.
- [39] DAVID S, LÓPEZ-VALES R, WEE YONG V. Harmful

- and beneficial effects of inflammation after spinal cord injury: potential therapeutic implications[J]. *Handb Clin Neurol*, 2012, 109: 485–502.
- [40] ZENDEDEL A, JOHANN S, MEHRABI S, et al. Activation and regulation of NLRP3 inflammasome by intrathecal application of SDF-1 α in a spinal cord injury model[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(5): 3063–3075.
- [41] PERREGAUX D G, MCNIFF P, LALIBERTE R, et al. ATP acts as an agonist to promote stimulus-induced secretion of IL-1 β and IL-18 in human blood[J]. *J Immunol*, 2000, 165(8): 4615–4623.
- [42] FAN H, TANG H B, CHEN Z, et al. Inhibiting HMGB1–RAGE axis prevents pro-inflammatory macrophages/microglia polarization and affords neuroprotection after spinal cord injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 295.
- [43] HWANG D. Modulation of the expression of cyclooxygenase-2 by fatty acids mediated through Toll-like receptor 4-derived signaling pathways[J]. *FASEB J*, 2001, 15(14): 2556–2564.
- [44] 齐英娜, 王威, 吴鑫杰, 等. 脊髓损伤后微循环的变化及微循环障碍的药物治疗进展[J]. *中医正骨*, 2017, 29(10): 47–49.
- [45] KEEFE KM, SHEIKH I S, SMITH G M. Targeting Neurotrophins to Specific Populations of Neurons: NGF, BDNF, and NT-3 and Their Relevance for Treatment of Spinal Cord Injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 548.
- [46] BLUM R, KONNERTH A. Neurotrophin-mediated rapid signaling in the central nervous system: mechanisms and functions[J]. *Physiology (Bethesda)*, 2005, 20: 70–78.
- [47] ZHAO T F, YAN W Q, XU K, et al. Combined treatment with platelet-rich plasma and brain-derived neurotrophic factor-overexpressing bone marrow stromal cells supports axonal remyelination in a rat spinal cord hemisection model[J]. *Cytotherapy*, 2013, 15(7): 792–804.
- [48] ALMEIDA R D, MANADAS B J, MELO C V, et al. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways[J]. *Cell Death Differ*, 2005, 12(10): 1329–1343.
- [49] ROMERO M I, RANGAPPA N, LI L, et al. Extensive sprouting of sensory afferents and hyperalgesia induced by conditional expression of nerve growth factor in the adult spinal cord[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(12): 4435–4445.
- [50] BARTKOWSKA K, TEPPER B, GAWDA A, et al. Inhibition of TrkB- and TrkC-signaling pathways affects neurogenesis in the opossum developing neocortex[J]. *Cereb Cortex*, 2019, 29(9): 3666–3675.
- [51] CAO Z X, GAO Y, DENG K W, et al. Receptors for myelin inhibitors: structures and therapeutic opportunities[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2010, 43(1): 1–14.
- [52] SUDSAWARD S, KHUNCHAI S, THEPMALEE C, et al. Endoplasmic reticulum stress, unfolded protein response and autophagy contribute to resistance to glucocorticoid treatment in human acute lymphoblastic leukaemia cells[J]. *Int J Oncol*, 2020, 57(3): 835–844.
- [53] ZHANG H Y, WANG Z G, LU X H, et al. Endoplasmic reticulum stress: relevance and therapeutics in central nervous system diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 51(3): 1343–1352.
- [54] LI H T, ZHANG X R, QI X, et al. Icariin inhibits endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis after spinal cord injury through modulating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(2): 277–286.
- [55] WAN S L, SHI P H, ZHANG X M, et al. Stronger expression of CHOP and caspase 12 in diabetic spinal cord injury rats[J]. *Neurol Res*, 2009, 31(10): 1049–1055.
- [56] WANG J Q, ZHANG M, LI H, et al. Berberine improves motor function recovery by inhibiting endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis via AMPK activation in rats with spinal cord injury[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10(4): 4900–4911.
- [57] MECHA M, TORRAO A S, MESTRE L, et al. Cannabidiol protects oligodendrocyte progenitor cells from inflammation-induced apoptosis by attenuating endoplasmic reticulum stress[J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3(6): e331.
- [58] LIU C Y, ZHANG A H. ROS-mediated PERK-eIF2 α -ATF4 pathway plays an important role in arsenite-induced L-02 cells apoptosis via regulating CHOP-DR5 signaling[J]. *Environ Toxicol*, 2020, 35(10): 1100–1113.
- [59] MEKHAIL M, ALMAZAN G, TABRIZIAN M. Oligodendrocyte-protection and remyelination post-spinal cord injuries: a review[J]. *Prog Neurobiol*, 2012, 96(3): 322–339.

- [60] YORIMITSU T, NAIR U, YANG Z F, et al. Endoplasmic reticulum stress triggers autophagy [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(40):30299–30304.
- [61] RATHINAM V A, VANAJA S K, FITZGERALD K A. Regulation of inflammasome signaling[J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(4):333–342.
- [62] KOUROKU Y, FUJITA E, TANIDA I, et al. ER stress (PERK/eIF2 α phosphorylation) mediates the polyglutamine-induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation[J]. *Cell Death Differ*, 2007, 14(2):230–239.
- [63] HANNA R A, CAMPBELL R L, DAVIES P L. Calcium-bound structure of calpain and its mechanism of inhibition by calpastatin[J]. *Nature*, 2008, 456(7220):409–412.
- [64] WANG Y Y, ZHANG H, MA T, et al. Piezo1 mediates neuron oxygen-glucose deprivation/reoxygenation injury via Ca²⁺/calpain signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513(1):147–153.
- [65] SUZUKI K, HATA S, KAWABATA Y, et al. Structure, activation, and biology of calpain[J]. *Diabetes*, 2004, 53(Suppl 1):S12–S18.
- [66] PÖRN-ARES M I, SAMALI A, ORRENIUS S. Cleavage of the calpain inhibitor, calpeseltin, during apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 1998, 5(12):1028–1033.
- [67] PARRA V, MORAGA F, KUZMICIC J, et al. Calcium and mitochondrial metabolism in ceramide-induced cardiomyocyte death[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(8):1334–1344.
- [68] LOONAT A A, MARTIN E D, SARAFRAZ-SHEKARY N, et al. p38 γ MAPK contributes to left ventricular remodeling after pathologic stress and disinhibits calpain through phosphorylation of calpastatin [J]. *FASEB J*, 2019, 33(12):13131–13144.
- [69] 张林峰. 推拿对SNI大鼠脊髓腹角和背根神经元凋亡通路中Bcl-2, caspase-3表达的影响[D]. 北京:北京中医药大学, 2016.
- [70] BURGUILLOS M A, HAJJI N, ENGLUND E, et al. Apoptosis-inducing factor mediates dopaminergic cell death in response to LPS-induced inflammatory stimulus: evidence in Parkinson's disease patients[J]. *Neurobiol Dis*, 2011, 41(1):177–188.
- [71] OHNISHI T, YAMADA K, IWASAKI K, et al. Caspase-3 knockout inhibits intervertebral disc degeneration related to injury but accelerates degeneration related to aging[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):19324.
- [72] ZHAO Y, ZHONG L, LIU L, et al. Salinomycin induces apoptosis and differentiation in human acute promyelocytic leukemia cells[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(2):877–886.
- [73] GONG W H, SHI Y, REN J J. Research progresses of molecular mechanism of pyroptosis and its related diseases[J]. *Immunobiology*, 2020, 225(2):151884.
- [74] EFTEKHARPOUR E, NAGAKANNAN P, IQBAL M A, et al. Mevalonate Cascade and small Rho GTPase in spinal cord injury[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2017, 10(2):141–151.
- [75] WEIDNER N, NER A, SALIMI N. Spontaneous corticospinal axonal plasticity and functional recovery after adult central nervous system injury[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(6):3513–3518.
- [76] 刘婷婷, 张淑萍, 覃筱燕, 等. MAPK信号转导通路与神经损伤研究进展 [J]. *中国公共卫生*, 2016, 32(2):248–254.
- [77] 胡蓉, 陈怡, 徐海鹏, 等. 电针“夹脊”穴对急性脊髓损伤大鼠少突胶质前体细胞增殖分化的影响[J]. *中国针灸*, 2020, 40(5):519–525.
- [78] 刘建敏, 王福川, 周亚净, 等. 电针刺激对脊髓挫伤模型大鼠神经细胞凋亡的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(5):616–621.
- [79] LIU Q S, LI S R, LI K Q, et al. Ellagic acid improves endogenous neural stem cells proliferation and neurorestoration through Wnt/ β -catenin signaling in vivo and in vitro[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61(3):1002.
- [80] 程素利, 徐家淳, 王剑歌, 等. 急性脊髓损伤大鼠Allen's造模方法的改良及行为学评价[J]. *四川中医*, 2015, 33(10):43–45.