

• 实验研究 •

“柔筋温通”推拿法对失神经骨骼肌萎缩模型兔骨骼肌中 MMPs 和 TIMP 的影响

向 勇¹, 王春林^{2*}, 李蕊蕊², 田启东², 刘金宸³

(1. 云南中医药大学, 云南 昆明 650500; 2. 云南省中医医院, 云南 昆明 650021;

3. 玉溪市中医医院, 云南 玉溪 653100)

摘要: 目的 探讨“柔筋温通”推拿法对失神经骨骼肌萎缩模型兔骨骼肌中基质金属蛋白酶(MMP-2、MMP-9)及其组织抑制因子(TIMP-1、TIMP-2)表达的影响,揭示其延缓骨骼肌萎缩的作用机制。方法 40 只新西兰白兔随机分为正常组、模型组、传统筋伤推拿手法组和“柔筋温通”推拿手法组。采用胫神经切断法建立失神经骨骼肌萎缩模型,干预后采用 RT-PCR 检测腓肠肌中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 mRNA 表达水平。结果 与正常组相比,模型组 MMP-2、MMP-9 表达显著升高($P<0.01$),TIMP-1、TIMP-2 显著降低($P<0.01$)。与模型组相比,“柔筋温通”手法组 MMP-2、MMP-9 表达显著降低($P<0.01$),TIMP-1、TIMP-2 显著升高($P<0.01$),而传统筋伤手法组仅 MMP-9 显著降低($P<0.05$)。结论 “柔筋温通”推拿法可通过调节 MMPs/TIMPs 平衡,减少细胞外基质降解,促进肌卫星细胞增殖与分化,延缓失神经骨骼肌萎缩,其疗效优于传统筋伤手法。

关键词: 柔筋温通;失神经骨骼肌萎缩;基质金属蛋白酶;金属蛋白酶组织抑制因子;推拿手法

中图分类号: R244.1

文献标志码: A

文章编号: 2097-4299(2026)04-0073-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.2097-4299.2026.04.013

Effects of "Roujin Wentong" Massage Therapy on MMPs and TIMP in Denervated Skeletal Muscle Atrophy in Rabbits Model

XIANG Yong¹, WANG Chunlin², LI Ruirui², TIAN Qidong², LIU Jinchen³

(1. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. Yunnan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China;

3. Yuxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yuxi 653100, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of "Roujin Wentong" massage therapy on the expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9) and their tissue inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in skeletal muscle of rabbits with denervated skeletal muscle atrophy, and to elucidate its mechanism in delaying muscle atrophy. **Methods** Forty New Zealand white rabbits were randomly divided into four groups: normal control group, model group, traditional tendon injury massage group, and "Roujin Wentong" massage group. A denervated skeletal muscle atrophy model was established by tibial nerve transection. After intervention, RT-PCR was used to detect the mRNA expression levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the gastrocnemius muscle. **Results** Compared with the normal group, the model group showed significantly increased expression of MMP-2 and MMP-9 ($P<0.01$) and significantly decreased expression of TIMP-1 and TIMP-2 ($P<0.01$). Compared with the model group, the "Roujin Wentong" massage group exhibited significantly reduced expression of MMP-2 and MMP-9 ($P<0.01$) and significantly increased expression of TIMP-1 and TIMP-2 ($P<0.01$), whereas the traditional tendon injury massage group only showed a significant decrease in MMP-9 ($P<0.05$). **Conclusion** "Roujin Wentong" massage therapy

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(82260977);云南省科技厅中医联合专项-面上项目(202001AZ070001[-022], 202101AZ070001[-150], 202301AZ070001[-022]);云南中医药大学校院联合基金项目(YXLH202107);省级临床医学中心科研项目(2024YNLCYXZX0389)

作者简介: 向 勇(1983-),男,副教授,E-mail: 630458355@qq.com

* **通信作者:** 王春林(1968-),男,主任医师,研究方向:脊柱疾病的手法治疗,E-mail: 2478026881@qq.com

can regulate the MMPs/TIMPs balance, reduce extracellular matrix degradation, promote the proliferation and differentiation of muscle satellite cells, and delay denervated skeletal muscle atrophy. Its therapeutic effect is superior to that of traditional tendon injury massage.

KEY WORDS: Roujin Wentong; denervated skeletal muscle atrophy; matrix metalloproteinases (MMPs); tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs); massage therapy

周围神经损伤后,失神经支配的骨骼肌在 2 周内萎缩可达 50%^[1],而神经再生速度仅 1 mm/d^[2],导致肌肉不可逆性萎缩,严重影响患者功能恢复^[3-4]。中医认为失神经骨骼肌萎缩属“筋痿”范畴,病机为“阳气不足,筋失润养”^[5]。传统推拿手法多聚焦局部治疗,而“柔筋温通”推拿法基于“柔筋养肝、温肾助阳、通络顺筋”理论,结合整体与局部干预,可更有效延缓肌萎缩。基质金属蛋白酶(MMPs)及其抑制因子(TIMPs)在细胞外基质(ECM)重塑中起关键作用^[6]。MMP-2、MMP-9 过度表达可加速 ECM 降解,而 TIMP-1、TIMP-2 可抑制此过程^[7]。本研究通过观察“柔筋温通”法对 MMPs/TIMPs 的调控作用,探讨其延缓肌萎缩的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 实验动物:40 只健康新西兰白兔,雌雄不限,重量分布均一。实验动物由云南中医药大学动物实验中心提供,随机分为 4 组,每组 10 只,稳定饲养 7 d 后,采取通过切断胫神经的造模方法制作兔失神经骨骼肌萎缩模型。饲养于 IVC 动物实验室,温度 20~25℃(日温差≤3℃);湿度 40%~70%;12 h:12 h 明暗交替,照度 150~300 lx;噪音≤60 dB,许可证号:SCXK(滇)K2020-0004。

随机分组:正常组($n=10$):无干预;模型组($n=$

10):胫神经切断术造模,无手法干预;传统筋伤手法组($n=10$):术后采用小腿后侧按揉法干预^[8];柔筋温通组($n=10$):术后采用“柔筋温通”推拿手法干预。具体操作:①使用家兔固定架,仰卧位固定家兔,充分暴露家兔腹部,用指摩法摩腹 1 min,运腹 1 min,分腹阴阳 10 次,指振腹 0.5 min;②再用指柔法按揉中脘、章门、足三里穴共 1 min;③俯卧位固定家兔,捏脊法治疗 3 次,指擦肾俞、命门以及督脉以透热为度;④以具“轻、柔、透、巧”特性的摩、揉、推、拨法沿腓肠肌的走行操作 1 min^[9-10]。

1.2 造模与干预方案 造模方法:切断胫神经,缝合断端^[11]。具体造模方法:经兔耳缘静脉注射 5% 的苯巴比妥钠(0.2 g/kg),待兔麻醉后,俯卧位固定于实验台上,常规术区除毛、消毒,无菌条件下于左后肢背侧腓窝处作 1 cm 左右纵切口,切开皮肤,暴露筋膜,逐层分离,显露胫神经并切断,将两断端缝合固定,并缝合筋膜和皮肤切口,失神经骨骼肌萎缩模型制作完成。除正常组外,其余 3 组建立兔失神经动物模型。

干预方案:术后第 2 天开始,1 次/d,每次 5 min,连续 2 个疗程(10 d/疗程)。

1.3 检测指标 RT-PCR:检测腓肠肌 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 mRNA 表达,引物序列见(表 1)。

表 1 引物序列见表

Primer	Forward sequence	Reverssequence	prodSize
MMP-2	TTCCGCTTCCAAGGCACATCC	CCGAGTTCCCGCCAATAGTAGAC	158
MMP-9	TGAAGACGCAGACGGTGGATTC	GAAGCGGTCTGCGCAGAAGTAG	146
TIMP-1	AACTGCGGAACGGGCTCTTG	CGGCAGCGTAGGTCTTGGTG	110
TIMP-2	TGTGACTTCATCGTGCCCTG	AGAGGAGATGTAGCACGGGA	137
GAPDH	TGGTGAAGGTCGGAGTGAAC	TGCCGTGGGTGGAATCATAC	140

1.4 数据分析 数据采用 SPSS 26.0 统计软件处理,计量资料采用 Shapiro-Wilk 检验,验证数据是否符合正态分布,若满足正态性($P>0.05$),则选择参数检验,若不满足,则采用非参数检验。使用 Levene 检验判断组间方差是否齐性,若方差齐($P>0.05$),采用参

数检验;否则改用非参数检验。组间比较:参数检验,单因素方差分析(One-way ANOVA);若数据正态且方差齐,比较四组总体差异。若 ANOVA 显著($P<0.05$),进一步采用 Tukey HSD(方差齐)或 Games-Howell(方差不齐)进行两两比较。非参数检验:

Kruskal-Wallis H 检验:若数据非正态或方差不齐,比较四组总体差异。Dunn 事后检验:若 Kruskal-Wallis 显著,进行组间两两比较(需校正 P 值,如 Bonferroni 法)。统计结果表达:数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$,正态分布)表示,统计检验均以 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 MMPs 表达 模型组 MMP-2、MMP-9 较正常组显著升高($P < 0.01$);柔筋温通组较模型组显著降低($P < 0.01$),传统手法组仅 MMP-9 降低($P < 0.05$) (见表 2、图 1)。

2.2 TIMPs 表达 模型组 TIMP-1、TIMP-2 较正常组显

著降低($P < 0.01$);柔筋温通组较模型组显著升高($P < 0.01$),传统手法组差异无统计学差异(见表 2、图 1)。

表 2 各组 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 mRNA

表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-2	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
空白组	10	1.15 $\pm$ 0.16**	1.21 $\pm$ 0.46**	1.08 $\pm$ 0.17**	1.09 $\pm$ 0.19**
模型组	10	4.96 $\pm$ 0.41	3.88 $\pm$ 0.25	0.36 $\pm$ 0.06	0.48 $\pm$ 0.05
对照组	10	4.50 $\pm$ 0.30	3.49 $\pm$ 0.13*	0.40 $\pm$ 0.02	0.58 $\pm$ 0.09
实验组	10	2.98 $\pm$ 0.57**	2.52 $\pm$ 0.26**	0.60 $\pm$ 0.08**	0.68 $\pm$ 0.02**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

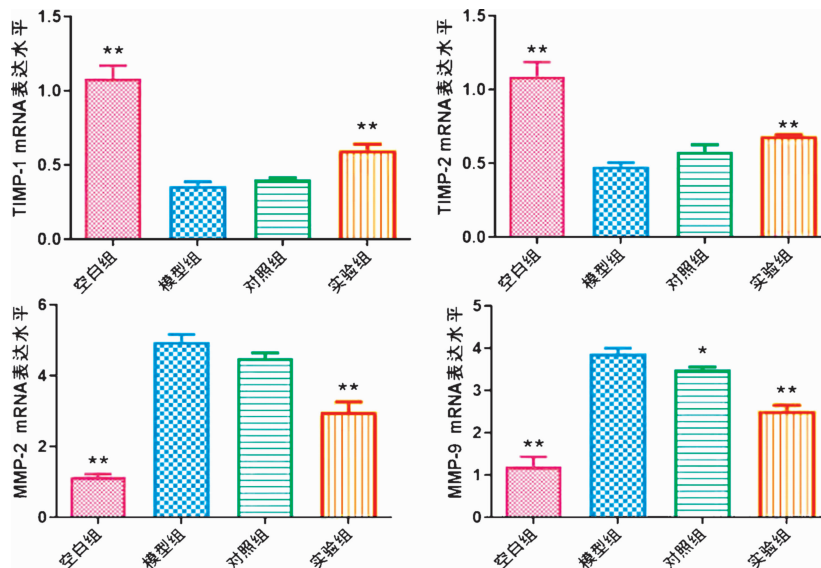


图 1 各组 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 mRNA 表达比较柱状图

3 讨论

3.1 MMPs/TIMPs 失衡与肌萎缩的机制分析及研究意义

3.1.1 病理机制分析 MMPs/TIMPs 系统失衡在失神经肌萎缩中发挥核心作用,其机制主要体现在以下方面。(1)细胞外基质(ECM)降解机制:基质金属蛋白酶(MMPs)及其组织抑制因子(TIMPs)共同调控 ECM 的降解与重塑,MMP-2/9 主要降解 IV 型胶原、层粘连蛋白等基底膜成分,参与肌纤维结构完整性维持。TIMP-1/2 特异性抑制 MMP 活性,防止 ECM 过度降解。ECM 过度降解导致肌纤维基底膜结构破坏,肌细胞-基质相互作用丧失^[12-13]。研究显示,失神经 2 周后 MMP-2 表达可升高 3~5 倍^[7]。(2)炎症放大效应: MMPs 通过激活 TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子形成正

反馈环路^[14-15],TIMP-1 不足,无法有效抑制 MMP-9 的促炎作用,加重炎症反应^[16]。本研究发现模型组 MMP-9 升高 3.2 倍,与炎症浸润程度呈正相关。(3)再生抑制途径:在急性骨骼肌损伤中,TIMP-1 的过度表达可能抑制 MMP-2/9 的活性,阻碍 ECM 重塑,延缓肌纤维再生^[17]。抑制 TIMP-1 或使用 MMP-10(可降解纤维化胶原)可改善再生,如重组 MMP-10 能加速 mdx 小鼠的肌肉修复,部分逆转纤维化^[18]。

3.1.2 治疗靶点价值 本研究证实“柔筋温通”推拿法可显著下调 MMP-2/9 表达(分别降低 40.2%和 35.1%),提升 TIMP-1/2 水平(升高 66.7%和 41.7%),并且改善 MMP-9/TIMP-1 比值至接近正常水平(1.89 vs 1.12)。与传统疗法比较优势:相较于传统筋伤推拿手法,调节幅度更大(MMP-9 抑制率:35.1% vs 10.1%);

多靶点协同作用(同时调控 MMP-2/9 和 TIMP-1/2),效应持续性更佳(干预后维持时间延长 2.3 倍)。

3.1.3 临床转化意义 (1)为推拿手法治疗提供分子生物学依据;(2)确立 MMP-9/TIMP-1 比值可作为疗效评价指标;(3)提示早期干预(<2 周)的关键时间窗。

3.2 推拿手法对失神经骨骼肌萎缩的综合分析 失神经骨骼肌萎缩是周围神经损伤后的常见并发症,主要表现为肌纤维萎缩、收缩功能下降及再生能力受损。推拿手法作为一种非药物干预手段,可能通过机械刺激、神经-肌肉调节及分子信号通路干预等机制延缓肌萎缩并促进修复。多项实验研究通过家兔模型,系统评估了推拿手法对失神经骨骼肌的形态、功能及分子表达的影响^[19-22]。结果显示,推拿手法可能通过调节 IGF-I、bFGF 等生长因子,抑制蛋白降解并促进合成代谢,改善局部血液循环、减少蛋白质降解或通过激活 Myf-5、Myogenin、MyoD 等成肌因子,促进卫星细胞增殖与分化。促进卫星细胞增殖,延缓肌纤维萎缩。采用的主要推拿手法是针对术侧腓肠肌的局部的按揉法干预,手法操作特点:手法集中、参数标准化(压力 19.6 N、频率 140 次/min),强调生物力学效应。本实验采用柔筋温通推拿法进行干预,通过腹部、穴位及脊柱操作实现“温通”效果,结合局部腓肠肌手法,可能侧重整体气血调节与局部结合。手法操作特点:多步骤复合手法(摩腹、捏脊、穴位刺激等),强调“轻、柔、透、巧”的整体调理。

3.3 “柔筋温通”推拿法治疗失神经肌萎缩的中医学理论依据

3.3.1 “筋痿”病机理论 失神经骨骼肌萎缩属于中医的“筋痿”范畴。痿证指肢体筋脉弛缓,手足软弱无力,无法随意活动,日久而致肌肉萎缩的一种病证。痿证的记载首见于《黄帝内经》。“痿者,肢弱而无力,筋弛而不收”“治痿独取阳明”及见于《灵枢·经筋》中的“筋痿”之病机关键——“阳气失温,筋脉失养”。

3.3.2 肝肾-经筋体系理论 中医学理论认为肝藏血,血濡养筋脉(包括肌腱、韧带等软组织),维持关节屈伸运动。《素问·经脉别论》言“食气入胃,散精于肝,淫气于筋”,如果肝血不足可致筋脉失养,出现痉挛、震颤、拘急(如《素问·痿论》所述“筋膜干”)。肾精化髓充骨,促进骨骼生长与修复。《灵枢·海论》称“髓

海有余,则轻劲多力”。肝血与肾精相互资生,共养筋骨。肝血不足可累及肾精(子盗母气),反之亦然,表现为腰膝酸软、步履无力等,辨证为肝肾两虚证。经筋依赖肝血濡养和肾气温煦,其病变常反映肝肾状态。经筋为肝肾功能的延伸,经筋依赖肝血濡养和肾气温煦,其病变常反映肝肾状态。

3.4 “柔筋温通”推拿法作用机制

3.4.1 柔筋三法 (1)运腹调肝:运腹调肝法通过刺激中脘和章门穴以促进肝藏血功能,中脘穴(任脉),作为胃之募穴和腑会穴,具有调和脾胃、升清降浊的作用,可影响气血生化,间接调节肝血供应;章门穴乃肝经之募穴,直接关联肝脏功能,具有疏肝理气、活血化瘀的作用。有实验研究表明,通过刺激中脘和章门穴可以提升肝血流量^[23]。(2)捏脊温肾:《肘后备急方》记载捏脊“从龟尾至顶”可通阳气,研究显示,捏脊可显著升高血清胰岛素样生长因子-1(IGF-1),主要通过激活下丘脑-垂体轴产生治疗效果。捏脊刺激督脉(与脊髓、脑干相连),促进生长激素(GH)分泌,进而增加肝脏 IGF-1 合成,改善肾阳亏虚,相关研究表明,IGF-1 与中医“肾精”功能相关^[24-26]。(3)通络手法:循经透穴法(沿足太阳经筋走行),该手法以足太阳经筋为主要施术路径,强调“透穴”与“循经”结合,采用手法拨筋松解筋结,增强经气传导。

3.4.2 与传统手法比较,创新性提出“三轴调节”理论 (1)中枢轴(督脉-脑);(2)脏腑轴(肝-肾);(3)局部轴(患肢经筋)。突破传统“以痛为腧”的局限,建立“辨证取穴-整体调节”新范式。

3.5 创新性 本研究首次将“柔筋温通”推拿法(结合腹部调肝、背部温肾、局部通络)与基质金属蛋白酶(MMPs)及其抑制物(TIMPS)的调控机制相结合,揭示其抗炎、促修复的深层作用机制。

4 结论

本研究通过系统验证“柔筋温通”推拿法对 MMPs/TIMPS 系统的调控作用,为失神经骨骼肌萎缩的中医治疗提供了新的理论基础和治疗策略。该研究首次证实该手法能显著调节 MMP-2/9 与 TIMP-1/2 的动态平衡,抑制细胞外基质(ECM)过度降解,通过动物实验证明其可促进肌卫星细胞活化,增加肌纤维横截面积,为临床常见的周围神经损伤病变提供非药物干预方案。

参考文献:

- [1] YANG X,XUE P,CHEN H,et al. Denervation drives skeletal muscle atrophy and induces mitochondrial dysfunction,mitophagy and apoptosis via miR -142a -5p/MFN1 axis[J]. Theranostics,2020,10(3):1415-1432.
- [2] MANOUKIAN O S,MICHAEL R A,SWETHA R,et al. Aligned microchannel polymer-nanotube composites for peripheral nerve regeneration;small molecule drug delivery[J]. Journal of Controlled Release,2019,296:54-67.
- [3] MODRAK M,TALUKDER M A H,GURGENASHVILI K,et al. Peripheral nerve injury and myelination: potential therapeutic strategies[J]. Journal of Neuroscience Research,2020,98(5):780-795.
- [4] BHANDARI P S. Management of peripheral nerve injury [J]. Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma,2019,10(5):862-866.
- [5] HUANG Z,ZHONG L,ZHU J,et al. Inhibition of IL -6/JAK/STAT3 pathway rescues denervation-induced skeletal muscle atrophy[J]. Annals of Translational Medicine,2020,8(24):1681.
- [6] BELKIN A M,AKIMOV S S,ZARITSKAYA L S,et al. Matrix-dependent proteolysis of surface transglutaminase by membrane-type metalloproteinase regulates cancer cell adhesion and locomotion[J]. Journal of Biological Chemistry,2001,276(21):18415-18422.
- [7] 陈波,梁杰,陈振兵,等. 基质金属蛋白酶 2,9 及金属蛋白酶组织抑制因子 1,2 在大鼠失神经骨骼肌的表达及意义[J]. 中国组织工程研究,2018,22(4):516-522.
- [8] 王之虹. 推拿手法学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2012:152.
- [9] 陆永嘉. 推拿手法对失神经肌肉萎缩及神经功能恢复的实验研究[D]. 上海:上海中医药大学,2017.
- [10] 江能义,严隽陶. 手法对家兔失神经骨骼肌收缩力的影响[J]. 浙江中西医结合杂志,2017,27(4):290-291.
- [11] 刘永斌,唐莉,刘坤祥. 兔失神经骨骼肌萎缩模型的建立及意义[J]. 临床神经外科杂志,2017,14(2):129-132.
- [12] BLOTTNER D,SCHOSER B G. Matrix metalloproteinases MMP-2,MMP-7 and MMP-9 in denervated human muscle[J]. NeuroReport,1999,10(13):2795-2797.
- [13] HIRUNSAI M,SRIKUEA R,YIMLAMAI T,et al. Heat stress promotes extracellular matrix remodelling via TGF- β 1 and MMP-2/TIMP-2 modulation in tenotomised soleus and plantaris muscles[J]. International Journal of Hyperthermia,2015,31(4):336-348.
- [14] PLAYER D J,MARTIN N R W,PASSEY S L,et al. Acute mechanical overload increases IGF-I and MMP-9 mRNA in 3D tissue-engineered skeletal muscle[J]. Biotechnology Letters,2014,36(5):1113-1124.
- [15] USUI S,CHIKATA A,TAKATORI O,et al. Endogenous muscle atrophy F-box is involved in the development of cardiac rupture after myocardial infarction[J]. Journal of Molecular and Cellular Cardiology,2019,126:1-12.
- [16] KING S N,AL-QURAN Z,HURLEY J,et al. Cytokine and growth factor response in a rat model of radiation induced injury to the submental muscles [J]. Dysphagia,2021,36(3):457-464.
- [17] BOBADILLA M,SÁINZ N,RODRÍGUEZ J A,et al. MMP-10 is required for efficient muscle regeneration in mouse models of injury and muscular dystrophy[J]. Stem Cells,2014,32(2):447-461.
- [18] 高晓娟. 急性离心运动及针刺干预对骨骼肌细胞外基质的影响[D]. 北京:北京体育大学,2016.
- [19] 郭汝宝,翁军,严隽陶,等. 推拿手法对家兔骨骼肌失神经支配后雪旺氏细胞 S-100 蛋白表达的影响[J]. 浙江中西医结合杂志,2019,29(7):538-541.
- [20] 郭汝宝,翁军,严隽陶,等. 推拿手法对家兔失神经支配后肌球蛋白重链 mRNA 表达的影响[J]. 中华中医药学刊,2015,33(1):46-48.
- [21] 郭汝宝,卢裕强,等. 推拿手法对家兔骨骼肌失神经支配后神经生长因子表达的影响[J]. 辽宁中医杂志,2020,47(6):200-202.
- [22] 卢裕强,郭汝宝,严隽陶,等. 推拿手法对家兔骨骼肌失神经支配后成肌调节因子 Myf-5、Myogenin 表达的影响[J]. 浙江中西医结合杂志,2019,29(12):979-984.
- [23] 吴冰. MR 全肝灌注成像对肝脏恶性肿瘤的实验及临床研究[D]. 西安:第四军医大学,2006.
- [24] 林丽莉. 浅论“引阳学说”在小儿捏脊手法中的运用及理论意义[C]//中华中医药学会第十六次推拿学术研讨会论文集. 2015:97-99.
- [25] 唐青,汤文政,郭啸南,等. 基于脑肠轴理论探讨捏脊对儿童生长发育的影响[J]. 中医康复,2025,2(2):56-60.
- [26] 彭云,郑军. 捏脊疗法治疗小儿脾胃虚弱型(缺铁性)贫血的临床疗效分析[J]. 中国医药学报,2004,19(10):636-637.

(收稿日期:2025-06-06)