

· 综 述 ·

腧穴敏化机制的实验研究进展

郑璇¹, 陈亚媛¹, 乔海法¹, 高昕妍²

(1. 陕西中医药大学针灸推拿学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 中国中医科学院针灸研究所, 北京 100000)

[摘要]腧穴敏化, 又称为穴位敏化, 是指机体在受到各种理化因素或者疾病的刺激下, 穴位由“静”到“动”的一种动态变化, 是机体的一种病理反应状态。目前, 腧穴敏化机制的研究集中于膝骨关节炎的动物实验展开。实验结果表明, 腧穴敏化与肥大细胞的聚集、局部组织微循环、超极化激活的内向电流的变化有一定关联, 但具体机制尚不十分明确。

[关键词]腧穴敏化; 机制; 实验研究; 综述

[中图分类号]R224.2 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2020.01.024

近年来, 随着针灸在国际上认可度与知名度的提升, 其治疗效果亦得到循证医学证据的支撑。但由于针灸具体治疗机制尚不明确, 且常存在穴位与非穴位区域针刺疗效差异不明显的问题, 使得针灸的疗效、穴位的存在与否受到质疑, 影响针灸的国际化进程。

“腧穴敏化”现象的发现和研究表明了穴位的特异性。人体在正常状态下, 腧穴处于“静息状态”; 当机体处于病理状态时, 通过神经源性牵涉反应诱发体表穴位产生感觉异变, 将穴位转化为“激活状态”, 称之为腧穴敏化^[1]。其具有多样性、普遍性、规律性、功能性、特异性、动态性的特点^[2]。有研究表明, 腧穴敏化机制与肥大细胞聚集^[3-4]、局部微循环灌注增加^[5-6]、超极化激活的内向电流^[7]密度增加有一定关联, 并在胃肠黏膜损伤、膝骨关节炎、哮喘等疾病的临床及基础研究中得到了一定的验证。但目前的研究较分散, 多数研究集中在膝骨关节炎的动物实验中, 临床实验较少。笔者通过文献检索的方式, 系统总结腧穴敏化状态的可能发生机制。

1 肥大细胞与腧穴敏化

肥大细胞是人体重要的免疫细胞, 主要来源于骨髓前体细胞, 并以前体细胞的形式在血液中运输, 到达组织后分化成熟^[8]。成熟后的肥大细胞可分布于皮肤、鼻腔及肠道黏膜中^[8]。肥大细胞可对病毒、细菌侵袭、机械刺激、热刺激等多种理化刺激作出反应, 迅速释放颗粒中的递质, 并释放快速合成脂质递质, 最后释放新合成的细胞因子及趋化因子。

当机体受到机械刺激时, 机械刺激通过细胞外基质传递, 并通过黏附因子传递到细胞内骨架, 最终引起细胞响应^[8], 并有研究发现, 肥大细胞与经络有一定关联^[9]。而针灸属于理化刺激的一种, 理化因素引起肥大细胞发生反应, 将腧穴敏化现象的机制与肥大细胞联系起来。有学者认为, 当机体处于疾病状态时, 腧穴敏化部位局部形成“敏化池”, 诱导神经肽-肥大细胞-致敏物质释放, 同时激活中枢神经的不同水平发生敏化^[10]。并且, 针灸对肥大细胞具有双向调控作用^[11], 即在生理或病理状态下, 针刺相关穴位, 使得病变区域肥大细胞及其脱颗粒数目增加或者减少。

目前, 肥大细胞与腧穴敏化机制研究的动物实验研究中, 多数学者仍以膝骨关节炎动物模型为基础, 研究肥大细胞与腧穴敏化的各种可能发生机制, 只有少数研究者的研究涉及其他疾病的动物模型, 如胃、肠黏膜损伤, 哮喘模型。但腧穴敏化机制较复杂, 肥大细胞聚集所导致的腧穴敏化只是其中一种。

2 腧穴敏化与膝骨关节炎的相关研究

膝骨关节炎动物模型是腧穴敏化机制研究的经典模型, 绝大多数研究者采用此种模型研究腧穴敏化的机制。在不同的实验中, 研究者分别利用光成像、电镜成像等技术观察穴位局部微循环、局部超微结构的变化、敏化状态下肥大细胞时空特征和神经细胞电流变化, 以实验观察的不同结果, 阐述膝骨关节炎模型中腧穴敏化的相关机制。

2.1 腧穴敏化状态与肥大细胞的时空特征 肥大细胞的时空特征主要指不同时间节点敏化穴位区域肥大细胞聚集数量与脱颗粒率的变化, 体现腧穴敏化的“动态性”“特异性”等特点, 在具体实验验证中, 王巧侠等^[3,4,12]将雄性SD大鼠随机分为正常组、生理盐水组、模型组, 采用右膝关节腔内注射单碘乙酸

基金来源:国家自然科学基金项目(8187152344)

作者简介:郑璇(1993-), 女, 硕士研究生

通信作者:高昕妍(1975-), 女, 博士, 研究员, 博士研究生导师, gaoxy@mail.cintcm.ac.cn

盐的方式制备膝关节炎模型,并将不同组别依照时间节点再分为5个亚组。于模型复制成功后当天、第7天、第14天、第21天、第28天时取鹤顶、阳陵泉、委中穴区局部皮肤组织,采用甲苯胺蓝染色法检测肥大细胞。结果显示,模型组大鼠穴位附近的肥大细胞及其脱颗粒率显著高于对照组;模型组内不同时间节点的肥大细胞及其脱颗粒率的差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。研究发现,穴位附近肥大细胞类胰蛋白酶、5-羟色胺、组胺存在共表达现象。结果表明膝关节炎敏化的腧穴附近肥大细胞的表达存在时空特异性,并且穴位的敏化与肥大细胞聚集与细胞脱颗粒率有关。其释放的胰蛋白酶、5-羟色胺、组胺在穴位敏化中可能起到触发作用。

2.2 腧穴敏化与电镜下肥大细胞特征 电子显微镜下可清晰地观察到敏化穴位区域的细胞结构变化情况,验证穴位与非穴位区域细胞的差异。秦萍萍等^[13-14]将雄性SD大鼠随机分为正常组、生理盐水组、模型组,采用腔内注射单碘乙酸盐的方式制备膝关节炎模型,模型制备成功14d后采用透射电镜观察膝关节炎敏化穴位(鹤顶穴、委中穴)区域肥大细胞超微结构的变化,发现模型组委中穴肥大细胞形态正常,鹤顶穴区肥大细胞颗粒脱出,颗粒膜相互融合,脱颗粒后遗留有空泡。在不同穴区肥大细胞脱颗粒细胞数目的对比中,鹤顶穴区脱颗粒细胞数目变化有统计学意义($P < 0.05$),而委中穴区变化无统计学意义($P > 0.05$)。这一实验结果在阐明腧穴敏化机制的同时,充分说明腧穴敏化具有“特异性”。

2.3 腧穴敏化与局部微循环特征 刘潇潇等^[6]为验证组织微循环结构层面的变化与腧穴敏化之间的关系,采用光声成像技术对实验动物进行成像观察,并对比各组之间相关指标的变化,具体操作方式如下:将12只雄性BALB/C小鼠随机分为空白组、膝关节炎组、假模型组,每组4只。膝关节炎模型制备成功后第14天,观察各组小鼠左膝关节组织形态学改变;对各组小鼠左侧后肢足三里、阳陵泉及非穴进行成像,运用微血管量化算法计算穴位及非穴区域微血管弯曲度、微血管直径百分比及密度。结果显示,膝关节炎组小鼠左膝关节软骨侵蚀基质流失,表层剥蚀并变形,中层囊肿形成,其他2组软骨无明显变化;运用微血管量化算法计算3组小鼠穴位及非穴区域微血管弯曲度、微血管直径百分比,结果发现3组间的变化无统计学意义($P > 0.05$)。故推断穴位敏化状态与局部微循环的变化有一定的关联,但未提及具体的关联及变化机制。局部微循环变化的实验亦表明腧穴敏化具有“特异性”,只有

在敏化穴位区域,微循环变化最为明显。

2.4 腧穴敏化与超极化激活的内向电流 有研究表明,超极化激活的内向电流参与了外周和中枢敏化的形成^[15],但其具体机制尚不明确。马永圆^[7]为研究超极化激活内向电流在膝关节炎动物模型中参与腧穴敏化的相关机制,将实验分为3部分:

第一部分探索适用于穴位敏化研究的膝关节炎动物模型并筛选合适的评判指标,最终确立以1mg单碘醋酸盐膝关节腔内注射诱导的膝关节炎动物模型,并选择外膝眼作为敏化研究的穴位,以穴位痛阈值、肥大细胞脱颗粒比率两个指标作为判断穴位敏化的标准。

第二部分实验探究电针膝关节炎大鼠敏化穴位疗效,结果证实膝关节炎早期接受电针敏化穴位治疗可有效减轻病理损伤,镇痛作用较强;中期及晚期电针敏化穴位不能减轻病理损伤,镇痛作用逐步减弱。

第三部分实验,探究超极化激活内向电流在穴位敏化中的作用。此部分验证实验分为4部分,前3部分每部分分两组,即伪模型组(生理盐水注射膝关节)与膝关节炎模型组,每组各6只SD大鼠,每一部分大鼠均在模型复制第14天后取背根神经节,分别进行全细胞检测、蛋白免疫印迹检测、免疫荧光检测。第4部分实验又分4个亚组,即①伪模型+生理盐水组;②伪模型+超极化激活的环核拮抗剂组;③膝关节炎模型+生理盐水组;④膝关节炎模型+超极化激活的环核拮抗剂组。每个亚组6只雄性SD大鼠。第①③④组的大鼠,于模型复制14d后,进行穴位机械痛阈测试,测试结束后,间隔1h,给予大鼠腹腔注射等量生理盐水或超极化激活的环核拮抗剂,再次间隔1h,重复测量穴位机械痛阈。结果发现,穴位致敏后背根神经节神经细胞超极化激活的内向电流密度增加;穴位敏化后双侧L₅背根神经节的2型超极化激活的内向电流表达上调;超极化激活内向电流阻断剂逆转穴位敏化现象。这一结果证实了腧穴敏化状态的形成与内向电流有关。

2.5 腧穴敏化与其他模型 丁宁等^[16]利用球囊加压法复制家兔急性心肌缺血模型,在实验开始当天进行手术,固定球囊,第7天利用球囊加压制备心肌缺血模型。并于实验开始当天、第7天、第8天采用激光散斑血流成像技术监测各组家兔双侧内关、神门及心俞穴血流灌注量,结果发现第8天双侧内关、心俞穴血流灌注量较对照组显著升高($P < 0.05$),说明腧穴敏化状态与微循环有一定关联。此外,研

究者分别通过急性胃黏膜损伤大鼠模型和哮喘动物模型验证了P物质可以和肥大细胞在膈穴敏化机制中起到相似的作用,敏化的膈穴局部P物质含量显著升高,表明膈穴敏化状态与P物质有一定的关联^[17-18]。

3 讨论

膈穴敏化的机制复杂,与肥大细胞、P物质、局部微循环、超极化激活的内向电流的活动均有一定关联,但膈穴敏化状态具体的触发机制,目前尚不明确。在膝骨关节炎的动物实验中,发现膈穴敏化状态的几种可能的发生机制:①当病理状态下,各种理化因素刺激,膈穴部位的肥大细胞聚集,脱颗粒细胞增多,肥大细胞脱颗粒率增加,同时发现不同时间点的肥大细胞及其脱颗粒率有很大区别,由此推断,肥大细胞聚集与其脱颗粒率的增加是可能导致膈穴敏化状态的一个重要原因。而敏化状态膈穴附近的胰蛋白酶、5-羟色胺、组胺等物质比正常部位显著增加,可能是触发膈穴敏化状态的原因,但具体触发机制尚不明了。②膈穴敏化状态下局部微循环灌注量显著增加,由此反推,膈穴敏化状态与局部微循环有一定关联。③穴位致敏后超极化激活内向电流的密度增加,阻断超极化激活内向电流后膈穴敏化现象逆转,证实超极化激活内向电流影响膈穴敏化状态。

膈穴敏化是机体在病理状态下的一种特殊表现,可有多种敏化形式,如形敏、热敏、压敏、痛敏^[19]。每一种敏化形式又可以有不同的临床表现,如形敏患者在敏化膈穴部位可出现瘀点瘀斑、皮肤松弛、斑丘疹、结节等表现。临床研究证实,阿是穴^[20]、筋膜刺痛点^[21]亦是敏化状态膈穴的一种,并可根据不同疾病特定的敏化穴位进行治疗^[22],往往能取得较好的治疗效果。但目前关于膈穴敏化的机制尚处于推论阶段,具体的发生机制仍需不断的探索研究,以更好地为临床治疗服务。

参考文献:

[1] 朱兵. 穴位敏化现象及其生物学意义[J]. 中国针灸, 2019, 39(2): 115-121.

[2] 斯琴高娃, 牟秋杰, 汉德尔玛, 等. 膈穴敏化特性与调控机制研究[J]. 针灸临床杂志, 2019, 35(8): 4-8.

[3] 王巧侠, 王鑫, 丁宁, 等. 膝骨关节炎模型大鼠在穴位敏化不同时间节点相关穴区的肥大细胞研究[J]. 环球中医药, 2018, 11(9): 1352-1357.

[4] 王巧侠, 丁宁, 姜婧, 等. 膝骨关节炎模型大鼠相关穴位敏化的肥大细胞机制研究[J]. 针灸临床杂志, 2018, 34(10): 51-55.

[5] 丁宁, 姜婧, 胡嘉同, 等. 急性心肌缺血家兔相关膈穴敏化的激光散斑成像观察[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33

(9): 4109-4113.

[6] 刘潇潇, 丁宁, 姜婧, 等. 膝骨关节炎模型小鼠相关穴区微循环敏化的光声成像观察[J]. 针灸临床杂志, 2019, 35(2): 56-60.

[7] 马永圆. 膝骨关节炎穴位敏化研究模型的建立及背根神经节C类神经元Ih电流在穴位敏化中的作用[D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2018: 18-60.

[8] 顾金涛, 杨洪伟, 沈周锋, 等. 肥大细胞响应机械刺激与穴位敏化的生理基础[J]. 生物医学工程学进展, 2017, 38(1): 13-17.

[9] 张锐红, 许金森, 陈铭, 等. 肥大细胞及P物质与经络的相关研究[J]. 云南中医中药杂志, 2019, 40(7): 21-24.

[10] 朱兵. 穴位可塑性: 穴位本态的重要特征[J]. 中国针灸, 2015, 35(11): 1203-1208.

[11] 田中雪, 杨娜娜, 范浩, 等. 针灸对肥大细胞双向调节作用研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(6): 95-97.

[12] 王巧侠. 膝骨关节炎模型大鼠膈穴敏化不同时间节点的肥大细胞机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019: 42-67.

[13] 秦萍萍, 丁宁, 刘潇潇, 等. 膝骨关节炎大鼠敏化穴区肥大细胞超微结构的电镜研究[J]. 针灸临床杂志, 2018, 34(11): 46-49.

[14] 秦萍萍. 膝骨关节炎模型大鼠膈穴敏化的肥大细胞纳米CT及电镜成像研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019: 34-49.

[15] ZHANG M, GUO H, MA Y, et al. Acupoint sensitization is associated with increased excitability and hyperpolarization-activated current (I_h) in C-but not a delta-type neurons[J]. Neuroscience, 2019, 404: 499-509.

[16] 丁宁, 姜婧, 胡嘉同, 等. 急性心肌缺血家兔相关膈穴敏化的激光散斑成像观察[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(9): 4109-4113.

[17] 石宏, 程斌, 李江慧, 等. 肥大细胞和P物质参与急性胃黏膜损伤大鼠体表穴位的敏化过程[J]. 针刺研究, 2010, 35(5): 323-329.

[18] 张锐红. 基于肥大细胞和P物质探讨哮喘大鼠膈穴敏化的机制[D]. 福建: 福建中医药大学, 2019: 13-35.

[19] 王树东, 林星星, 王列, 等. 经穴循经特异性及敏化特性探析[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(11): 2579-2581.

[20] 王丹, 刘晓佳, 晏明熙, 等. 浅谈阿是穴与穴位敏化的关系[J]. 针灸临床杂志, 2019, 35(2): 1-3.

[21] 秦庆广, 付勇, 施静, 等. 肌筋膜激痛点是穴位敏化的一种型式[J/OL]. 针刺研究: 1-5 [2019-10-25]. <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.190690>.

[22] 周玉梅. 膝骨关节炎穴位敏化现象的临床观察研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2018: 78-96.

(收稿日期: 2019-10-14; 编辑: 张倩)