

· 实验研究 ·

电针委中穴对腰肌损伤大鼠内质网应激及自噬的影响^{*}郑小娟^{1*} 陈祥² 张艺强¹

摘要 目的:探讨电针委中穴对腰肌损伤大鼠炎症因子表达、内质网应激及自噬相关信号的调节作用,以揭示其可能的修复机制。**方法:**选用18只雄性SD大鼠,随机分为正常组、模型组和电针组,每组6只。模型组与电针组采用布比卡因注射构建腰肌损伤模型,电针组于造模24 h后给予双侧委中穴电针刺激,每日1次,连续7 d,而正常组与模型组仅进行相同时间的固定处理。实验结束后采用苏木精-伊红(HE)染色观察腰肌组织形态,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清及腰肌组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、内质网Ca²⁺泵(SERCA)含量,Western blot检测钙网蛋白(CRT)、78 kDa葡萄糖调节蛋白(GRP78)、微管相关蛋白1轻链3(LC3)、内质网自噬受体(FAM134B)表达。**结果:**模型组大鼠腰肌纤维排列紊乱,伴有明显炎性细胞浸润,TNF- α 、CRT、GRP78、FAM134B表达升高,SERCA表达降低,LC3-II/LC3-I比值上升,与正常组比较差异显著($P<0.05$);电针组腰肌结构改善,炎症反应减轻,与模型组比较,TNF- α 、CRT、GRP78、LC3-II/LC3-I、FAM134B表达下调,SERCA表达升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**电针委中穴可通过下调炎症因子、恢复钙泵功能、缓解内质网应激,并适度调控细胞自噬活性,发挥促进腰肌损伤修复的作用。

关键词 腰肌损伤;电针;委中穴;内质网应激;细胞自噬

腰肌损伤归属于中医学“筋伤”“腰痛”范畴。中国成年人腰痛年发生率高达29.88%,因此,腰肌损伤干预成为临床重点^[1]。《针灸大成》提出“腰背委中求”,指出委中穴具有通经止痛、疏通气血的作用。现代研究^[2-3]证实,针刺或电针“委中”穴能有效缓解腰背部疼痛,改善局部循环,促进软组织修复。电针作为针刺与电刺激融合的疗法,在调节炎症因子、降低炎症反应方面更具有优势。已有研究^[4]证实,电针可显著降低肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)表达,缓解局部炎症反应,促进细胞与组织修复。TNF- α 不仅是炎症启动因子,还可通过抑制肌浆网/内质网钙离子ATP酶(Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase, SERCA)功能,引发钙稳态紊乱,进而激活内质网应激反应^[5]。内质网功能受损会导致未折叠蛋白聚集,激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR),其中78 kDa葡萄糖调节蛋白(78 kDa glucose-regulated protein, GRP78)和钙网蛋白(calre-

ticulin, CRT)为内质网应激状态的典型标志蛋白^[6]。研究^[7]还发现,序列相似性家族134成员B(Family with sequence similarity 134 member B, FAM134B)作为内质网选择性自噬受体,可介导损伤区域的自噬性降解,进一步参与细胞稳态的调节。内质网应激和自噬对腰肌损伤具有重要作用。目前,关于电针委中穴调节内质网应激-自噬轴改善腰肌损伤的研究还未见报道。因此,本研究构建腰肌损伤大鼠模型,观察电针委中穴对内质网应激及自噬相关蛋白表达的影响,以为腰痛的临床治疗提供实验依据。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 18只SPF级雄性SD大鼠,6~8周龄,体质量200~220 g,购自斯贝福生物技术有限公司,实验动物生产许可证:SCXK(苏)2022-0006。动物饲养于福建医科大学SPF级实验动物中心,环境温度保持在22~25℃,环境湿度为45%~65%,光暗周期为12 h/12 h,自由摄食饮水。动物处理流程遵循福建医科大学伦理委员会制定的实验动物使用规范(伦理审批编号:IACUC FJMU 2024-0036)。

1.2 试剂和仪器 TNF- α ELISA试剂盒(Elabscience,批号:WS06NZDX1481);SERCA检测试

^{*}基金项目 福建省自然科学基金项目(No.2023J011494)

^{*}作者简介 郑小娟,女,副主任医师。主要从事针刺镇痛临床与基础研究。

^{*}作者单位 1.福州市第一总医院(福建福州 350009);2.福建省老年医院(福建福州 350003)

剂盒(上海酶联,批号:Jun-24);LC3 Rabbit pAb (Zenbio,批号:N18MA04);Calreticulin Rabbit pAb (Zenbio,批号:N19AP10);RETREG1 Rabbit pAb (Zenbio,批号:N19AP25);GRP78 BiP Rabbit mAb (Zenbio,批号:N12MA7P);GAPDH Monoclonal antibody(proteintech,批号:10028230);HRP标记山羊抗小鼠/兔IgG二抗(Proteintech,批号:20001637/20001594);超敏ECL化学发光检测试剂盒(武汉三鹰生物,批号:20033483);SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(BOSTER,批号:18L26C38);PVDF膜(Merck,批号:0000230835)。

AMR-100型酶联免疫分析仪(杭州奥盛仪器有限公司);Tanon 5200系列全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司);PowerPac Basic型Western-blot电泳仪(美国Bio-Rad公司);JID-17R型冷冻离心机(广州吉迪仪器有限公司);SDZ-V型华佗牌电子针疗仪(苏州医疗用品厂有限公司);乐灸牌一次性针灸针(规格:0.16 mm×13 mm,马鞍山邦德医疗器械有限公司)。

1.3 分组与造模 18只雄性SD大鼠随机分为正常组、模型组和电针组,每组6只。正常组不做任何处理,模型组与电针组采用布比卡因注射法建立腰肌损伤模型^[8]。造模方法:大鼠称重后异氟烷麻醉,剔除腰背部毛发,在严格无菌条件下暴露腰背部。采用4号针头一次性注射器抽取0.5%布比卡因溶液,于腰椎L4-L5棘突水平两侧多裂肌处注射,进针时针头紧贴棘突旁刺入,直至触及关节突与乳突骨面后回抽套管1 mm,无血后缓慢推注药液,单次注射时间≥3 s。每侧L4、L5水平旁边各注射两点,共四个注射点,每点注射100 μL。造模完成后,通过苏木精-伊红(HE)染色开展组织学评价,镜下若观察到炎性细胞浸润、肌肉组织间隙扩大、肌纤维断裂等病理表现,即可判定造模成功。

1.4 干预方式 造模24 h后,电针组大鼠依据《实验针灸学》中常用实验动物穴位图谱^[9],取双侧委中穴,垂直刺入5 mm,得气后连接电子针疗仪,采用疏密波,频率为2 Hz/10 Hz,电流强度以穴位局部肌肉出现轻微颤抖为宜,约2 mA,持续20 min,每日1次,连续7 d。正常组与模型组每日同时间固定,无电针刺激。

1.5 取材 干预结束后各组实验动物腹腔注射乌拉坦溶液(0.75 g/kg)麻醉,经腹主动脉取血,于4 °C条件下用离心机以3000 r/min离心15 min,分离血清;

剪除腰部皮毛、剥离筋膜,于双侧L5水平取宽、厚各约0.5 cm的腰肌组织,用于后续检测。

1.5.1 腰肌形态学检测 腰肌组织形态学检测采用HE染色法。固定后的组织经流水冲洗,将组织样本依次进行梯度酒精脱水处理、二甲苯透明、石蜡包埋,随后切片厚度控制在5 μm左右。切片经二甲苯脱蜡后,用苏木素染液染色5 min,流水冲洗1 min;PBS返蓝5 min,流水冲洗1 min,伊红染色1 min,再梯度乙醇脱水、透明,中性树胶封片,光镜下观察大鼠腰肌组织形态。

1.5.2 血清及腰肌组织TNF-α、SERCA含量测定 按ELISA试剂盒说明书进行测定。具体步骤:标准品逐级稀释,加样后37 °C孵育30 min,洗涤5次;随后加入酶标试剂和显色液A、B,避光孵育15 min,加终止液后在450 nm波长处测定各孔OD值,计算血清及腰肌中TNF-α、SERCA的含量。

1.5.3 腰肌LC3、CRT、FAM134B、GRP78蛋白表达水平测定 采用Western Blot法分析上述蛋白相对表达水平。具体步骤:采用含PMSF及广谱磷酸酶抑制剂混合物的增强型裂解液提取腰肌总蛋白,BCA法定量,设定上样量。经SDS-PAGE分离后转膜至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭2 h,分别加入LC3、CRT、FAM134B、GRP78一抗(1:1000稀释),4 °C孵育过夜。次日TBST洗膜后加入HRP标记的二抗(1:5000稀释),室温孵育1.5 h,ECL显色。

1.6 统计学方法 所有实验数据均在SPSS 27.0软件中进行统计处理。计量数据以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表达。若满足正态性和方差齐性假设,采用单因素方差分析进行多组比较,组间差异进一步检验采用LSD法;若不满足方差齐性,则改用Dunnett's T3方法。当数据偏离正态分布时,使用非参数独立样本秩和检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 电针委中穴对大鼠腰肌组织病理形态的影响 在正常组大鼠中,腰部肌肉纤维呈现出有序的排列和完整的结构,未观察到明显的炎性细胞浸润或肌纤维断裂现象;模型组大鼠腰肌组织结构紊乱,肌纤维排列杂乱,可见少量肌纤维出现凝固性坏死,炎性细胞浸润较明显。比较之下,电针干预后大鼠腰肌组织结构趋于整齐,炎性细胞数量显著减少,病变较模型组明显改善。见图1。

2.2 电针委中穴对大鼠血清及腰肌组织TNF-α含

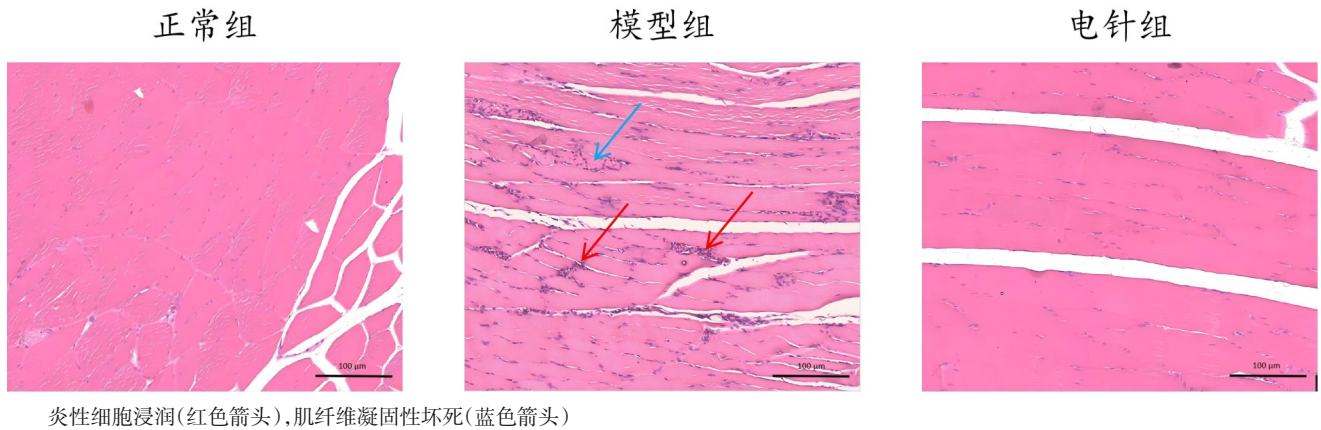


图1 电针委中穴对大鼠腰肌组织病理形态的影响(HE染色, ×200)

量的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清及腰肌组织中TNF-α含量均升高($P < 0.5$);与模型组比较,电针组大鼠血清及腰肌组织中TNF-α水平均明显下降($P < 0.05$)。见表1。

表1 电针委中穴对大鼠血清、腰肌组织TNF-α含量的影响 ($\bar{x} \pm s, \text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$)

组别	鼠数(只)	血清TNF-α	腰肌组织TNF-α
正常组	6	2.99±0.09	16.35±5.37
模型组	6	5.65±1.24 ¹⁾	67.98±13.13 ¹⁾
电针组	6	4.02±0.55 ²⁾	36.12±2.24 ²⁾

注: ¹⁾与正常组比较, $P < 0.05$; ²⁾与模型组比较, $P < 0.05$

2.3 电针委中穴对大鼠血清及腰肌组织SERCA含量的影响 模型组大鼠血清及腰肌组织中SERCA表达水平较正常组下降($P < 0.05$),电针组大鼠血清和腰肌组织中SERCA表达水平较模型组升高($P < 0.05$)。见表2。

表2 电针委中穴对大鼠血清、腰肌组织SERCA含量的影响 ($\bar{x} \pm s, \text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	鼠数(只)	血清SERCA	腰肌组织SERCA
正常组	6	126.24±6.20	226.16±14.08
模型组	6	54.80±6.86 ¹⁾	90.94±10.54 ¹⁾
电针组	6	109.70±9.20 ²⁾	202.70±6.30 ²⁾

注: ¹⁾与正常组比较, $P < 0.05$; ²⁾与模型组比较, $P < 0.05$

2.4 电针委中穴对大鼠腰肌组织CRT、GRP78蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组CRT表达增加($P < 0.05$),电针干预后CRT表达较模型组明显下降($P < 0.05$)。模型组GRP78蛋白表达高于正常组($P < 0.05$),电针组GRP78表达较模型组明显下降($P < 0.05$)。见图2、表3。

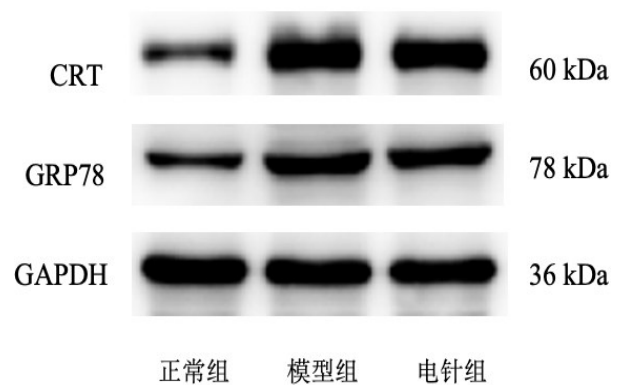


图2 电针委中穴对大鼠腰肌组织CRT、GRP78的Western Blot条带的影响

表3 电针委中穴对大鼠腰肌组织CRT、GRP78蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	CRT/GAPDH 比值	GRP78/GAPDH 比值
正常组	3	0.41±0.08	0.60±0.03
模型组	3	1.17±0.01 ¹⁾	1.00±0.04 ¹⁾
电针组	3	0.90±0.04 ²⁾	0.86±0.04 ²⁾

注: ¹⁾与正常组比较, $P < 0.05$; ²⁾与模型组比较, $P < 0.05$

2.5 电针委中穴对大鼠腰肌组织LC3- II/LC3- I、FAM134B蛋白表达的影响 模型组LC3- II/LC3- I比值较正常组明显升高($P < 0.05$),电针组LC3- II/LC3- I比值较模型组显著下降($P < 0.05$)。模型组FAM134B表达较正常组显著增加($P < 0.05$),电针组FAM134B表达较模型组显著下降($P < 0.05$)。见图3、表4。

3 讨论

腰肌损伤是导致腰痛的常见病因之一。《四总穴歌》云“腰背委中求”,表明腰背部疼痛多与足太阳膀胱

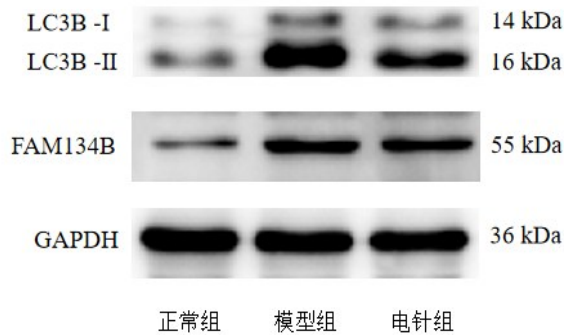


图3 电针委中穴对大鼠腰肌组织LC3- I、LC3- II、FAM134B的Western Blot条带的影响

表4 电针委中穴对大鼠腰肌组织LC3- II/LC3- I、FAM134B蛋白相对表达量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	LC3- II/LC3- I 比值	FAM134B/GAPDH 比值
正常组	3	3.16±0.31	0.42±0.06
模型组	3	5.46±0.58 ¹⁾	0.82±0.03 ¹⁾
电针组	3	3.69±0.51 ²⁾	0.69±0.03 ²⁾

注:¹⁾与正常组比较, $P < 0.05$;²⁾与模型组比较, $P < 0.05$

膀胱气血运行不畅密切相关。委中穴为足太阳膀胱经之合穴,《灵枢·经脉》云:“膀胱足太阳之脉,其支者,从腰中下挟脊,贯臀,入腠中。”从膀胱经的循行分布看,表层竖脊肌与深层多裂肌均属其分野,故临床常用委中穴治疗腰背部疾患,如张琪等^[10]发现点按委中穴可刺激MGF表达并激活Nrf2通路,下调肌细胞修复性蛋白表达,从而改善腰肌损伤大鼠多裂肌炎症损伤病理状态,促进受损组织结构修复。电针疗法是目前针刺治疗骨骼肌损伤最为常用的方法之一。现代研究证实,电针委中穴能改善局部血液循环、缓解疼痛、促进软组织修复^[11-14]。作为软组织损伤常见类型,腰肌损伤的病理变化不仅包括炎性反应,还涉及钙稳态破坏、内质网应激及细胞自噬激活等复杂过程。本研究从炎症因子、钙稳态调节、内质网应激以及自噬通路四个方面出发,探讨电针委中穴对腰肌损伤修复的作用机制。

在软组织损伤的早期,炎症反应是启动并主导修复过程的关键环节。局部组织受损后,细胞膜通透性改变、损伤相关分子模式释放,其中,TNF- α 是早期释放的重要炎症因子,可激活NF- κ B、JNK等信号通路,促进IL-1 β 、IL-6等炎症介质表达,诱导免疫细胞浸润并加重组织损伤^[15]。本研究中,模型组HE染色显示炎性细胞浸润较明显,大鼠TNF- α 水平较正常组显著

升高。电针干预后,HE染色观察可见炎性细胞显著减少,TNF- α 水平较模型组显著降低,表明电针委中穴可有效抑制炎症反应。与此同时,炎症反应与钙稳态失衡密切相关。SERCA作为内质网钙泵,负责维持细胞内钙离子的稳态,若其功能受损将导致内质网钙耗竭,诱发内质网应激反应和细胞代谢紊乱。模型组中,SERCA表达较正常组显著下降,提示钙泵功能受损,进而导致内质网应激和细胞损伤。电针干预后,SERCA表达较模型组增加,表明电针可能通过恢复钙泵功能,减轻内质网钙耗竭,缓解内质网应激,从而促进腰肌损伤的修复。

内质网应激在细胞损伤和修复过程中扮演着关键角色,当内质网功能受损时,大量未正确折叠的蛋白积聚,引发未折叠蛋白反应(UPR)以应对应激负荷^[16]。GRP78被认为是UPR中最早响应的分子,其上调表明内质网应激状态已被激活,可调动折叠系统,结合未折叠蛋白参与修复,缓解蛋白质积压^[17]。而CRT作为钙结合蛋白,亦是内质网应激的关键调控因子,参与钙信号调节与内质网钙缓冲能力^[18-19]。过度激活的UPR会形成持续应激状态,影响细胞器功能稳定性。本研究发现,与正常组比较,模型组大鼠GRP78和CRT表达显著提高,提示随着细胞损伤程度加重,内质网应激反应被激活。电针治疗后,二者表达较模型组显著下降,表明电针可能通过恢复钙稳态,减缓内质网应激反应。以上结果表明,电针干预能够调节内质网应激反应,减轻细胞应激损伤,为腰肌修复提供更有利的细胞环境。

在应对内质网应激时,细胞不仅通过UPR调控蛋白质代谢,还会激活自噬通路,清除错误折叠蛋白与受损细胞器,从而缓解应激负荷。自噬是细胞维持内稳态的重要机制之一,尤其在面临内源性应激时表现为一种防御性生存策略^[20]。自噬过程由多个自噬相关基因调控,其中LC3在自噬小体形成中起关键作用,是反映自噬流水水平的经典标志。LC3- I脂化后形成LC3- II并锚定于自噬体膜,LC3- II/LC3- I比值可用于评估自噬活性^[21]。FAM134B是第一个被发现的内质网选择性自噬受体。本研究发现,模型组大鼠LC3- II/LC3- I比值、FAM134B表达较正常组显著升高,提示损伤后细胞自噬被过度激活。电针治疗后,二者表达较模型组显著下降,这表明电针能够调控自噬通量,抑制过度自噬,恢复自噬过程的平衡。内质网应激与自噬并非孤立过程。研究显示,UPR可通过PERK-eIF2 α -ATF4通路上调LC3与FAM134B的表

达,形成“应激-自噬”协同反应网络,适度的自噬有助于清除坏死细胞和有害物质,但过度自噬可能导致细胞器损伤,对组织修复产生不利影响^[22]。在生理状态下,该机制有助于应对压力、恢复稳态;但在应激持续或调控失衡时,则可能转化为凋亡信号源,影响组织修复进程^[23]。

综上所述,本研究结果揭示了腰肌损伤过程中“炎症激活-钙泵功能受损-钙稳态失衡-内质网应激激活-细胞自噬增强”递进性病理链条。电针委中穴干预后,能够有效调控炎症水平、减轻免疫应答、恢复钙泵功能、重建细胞钙稳态、缓解内质网应激,并适度调控细胞自噬活性,从而促进受损腰肌实现结构与功能的整体性恢复。这不仅从现代生物学层面验证了“腰背委中求”的传统经验,也为电针干预软组织损伤提供了明确的机制依据。

参考文献

[1] KNEZEVIC N N, CANDIDO K D, VLAEYEN J W S, et al. Low back pain[J]. *Lancet*, 2021, 398(10294): 78-92.
 [2] 郑思懿,沈琼颖,吕政仪,等.“腰背委中求”的体表-体表间联系规律及其物质基础[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(3): 1359-1362.
 [3] 许晶晶,张峻峰,吴耀持,等.委中穴齐刺法治疗寒湿型腰椎间盘突出症的临床研究[J]. *天津中医药*, 2024, 41(12): 1522-1527.
 [4] 方亿生,陈少清,连晓阳,等.电针委中穴对腰肌钝挫伤大鼠骨骼肌中TNF- α 及IGF-1表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2016, 31(2): 201-204.
 [5] 刘军,甄平,周胜虎,等.TNF- α 在构建大鼠骨性关节炎模型中对内质网应激的影响探讨[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(10): 1268-1275.
 [6] HE X, HE H, HOU Z, et al. ER-phagy restrains inflammatory responses through its receptor UBAC2[J]. *EMBO J*, 2024, 43(21): 5057-5084.
 [7] PALMA A, REGGIO A. Signaling regulation of FAM134-dependent ER-phagy in cells[J]. *J Cell Physiol*, 2025, 240(1): e31492.
 [8] 陈玉佩,刘通,邹德辉,等.局部注射布比卡因建立大鼠骨骼肌损伤模型的组织形态学评价[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(18): 2615-2621.
 [9] 李忠仁. *实验针灸学*[M].北京:中国中医药出版社,2003:316.
 [10] 张琪,马信龙,赵娜,等.基于Keap1-Nrf2通路探讨点按委中穴对

大鼠腰肌损伤修复的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2025, 10(31): 40-43.
 [11] 施所宏,唐巍东.电针联合艾灸治疗非特异性腰痛疗效观察[J]. *湖北中医杂志*, 2025, 47(1): 36-38.
 [12] 郭霞,杜振莹,郝娜,等.电针激活 μ -阿片受体缓解大鼠痛情绪的机制[J]. *神经解剖学杂志*, 2022, 38(5): 507-513.
 [13] ZUO T, XIE M, YAN M, et al. In situ analysis of acupuncture protecting dopaminergic neurons from lipid peroxidative damage in mice of Parkinson's disease[J]. *Cell Proliferation*, 2022, 55(4): e13213.
 [14] 曾学究,艾坤,周予婧,等.电针对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠海马神经元氧化应激的影响[J]. *神经解剖学杂志*, 2025, 41(2): 157-164.
 [15] AKHTER N, WILSON A, AREFANIAN H, et al. Endoplasmic reticulum stress promotes the expression of TNF- α in THP-1 cells by mechanisms involving ROS/CHOP/HIF-1 α and MAPK/NF- κ B pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20): 15186.
 [16] AJOLABADY A, KAPLOWITZ N, LEBEAUPIN C, et al. Endoplasmic reticulum stress in liver diseases[J]. *Hepatology*, 2023, 77(2): 619-639.
 [17] SONG W, RAHIMIAN N, BASHKANDI A H. GRP78: a new promising candidate in colorectal cancer pathogenesis and therapy[J]. *Eur J Pharmacol*, 2025: 177308.
 [18] VEERASUBRAMANIAN P K, WYNN T A, QUAN J, et al. Targeting TNF/TNFR superfamilies in immune-mediated inflammatory diseases[J]. *J Exp Med*, 2024, 221(11): e20240806.
 [19] ZHENG Y, ZHENG Y H, WANG J H, et al. Progress of mitochondrial and endoplasmic reticulum-associated signaling and its regulation of chronic liver disease by Chinese medicine[J]. *World J Hepatol*, 2024, 16(4): 494.
 [20] TARU V, SZABO G, MEHAL W, et al. Inflammasomes in chronic liver disease: hepatic injury, fibrosis progression and systemic inflammation[J]. *J Hepatol*, 2024; 81(5): 895-910.
 [21] SUN Y, LIU D, SU P, et al. Changes in autophagy in rats after spinal cord injury and the effect of hyperbaric oxygen on autophagy[J]. *Neurosci Lett*, 2016, 618: 139-145.
 [22] WANG Y F, MA R X, ZOU B, et al. Endoplasmic reticulum stress regulates autophagic response that is involved in Saikosaponin a-induced liver cell damage[J]. *Toxicol In Vitro*, 2023, 88: 105534.
 [23] ZHANG H, QI G, WANG K, et al. Oxidative stress: roles in skeletal muscle atrophy[J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 214: 115664.

(收稿日期:2025-09-16)

(本文编辑:蒋艺芬)