

电针丰隆穴对高脂血症大鼠血脂及肝脏组织炎症细胞因子的调控作用

乐薇,张红星,王琼,黄国付,周利,覃鹏飞

【摘要】 目的:探讨电针丰隆穴对高脂血症大鼠肝脏组织炎症细胞因子的调控作用。方法:将30只健康SD大鼠随机分为正常组、模型组、电针组各10只。电针组给予丰隆穴电针治疗。4周后,检测各组大鼠血脂水平,即总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量,ELISA检测各组大鼠肝脏组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、干扰素- γ (IFN- γ)蛋白水平变化。结果:治疗后,血脂水平比较,与正常组比较,模型组大鼠TC、TG及LDL-C均显著升高($P<0.01, 0.05$),HDL-C显著降低($P<0.05$),电针组的TC、LDL-C均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,电针组大鼠TC、TG及LDL-C均显著降低($P<0.01, 0.05$),HDL-C显著升高($P<0.05$)。肝脏组织炎症因子蛋白水平比较,与正常组比较,模型组炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 均有显著性升高($P<0.05, 0.01$),电针组炎症因子差异均无统计学意义。与模型组比较,电针组炎症因子均明显降低($P<0.05, 0.01$)。结论:电针丰隆穴能够明显下调高脂血症大鼠血脂中TC、LDL-C水平,并能降低肝脏组织中炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 的蛋白水平变化,对高脂血症具有一定的治疗作用。

【关键词】 高脂血症;电针;丰隆穴;肿瘤坏死因子- α ;白细胞介素-1 β ;干扰素- γ

【中图分类号】 R49;R589.2 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2015.01.002

Modulatory effect of electroacupuncture at "Fenglong"(ST40) on blood lipid and inflammatory factors in livers of rat hyperlipidemia model Le Wei, Zhang Hongxing, Wang Qiong, et al. Wuhan Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Wuhan 430022, China

【Abstract】 Objective: To study the modulatory effect of electroacupuncture at the "Fenglong" on inflammatory factors in the livers of rat hyperlipidemia model. **Methods:** Thirty health male SD rats were selected and randomly divided into 3 groups: normal control group (A), model control group (B), and electroacupuncture group (C). After four weeks, blood lipids of rats were determined. The protein levels of TNF- α , IL-1 β and IFN- γ in the livers of rat hyperlipidemia model were detected by ELISA. **Results:** As compared with group A, the contents of TC, TG and LDL-C were significantly increased ($P<0.01$, or $P<0.05$) and the content of HDL-C was significantly decreased ($P<0.05$) in group B, and the contents of TC and LDL-C were significantly increased in group C ($P<0.01$). As compared with group B, the contents of TC, TG and LDL-C were significantly reduced ($P<0.01$), and those of HDL-C significantly increased in group C ($P<0.05$). As compared with group A, TNF- α , IL-1 β and IFN- γ levels were increased significantly in group B ($P<0.05$, and $P<0.01$). As compared with group B, TNF- α , IL-1 β and IFN- γ levels in group C were decreased significantly ($P<0.05$, and $P<0.01$). **Conclusion:** Electroacupuncture at "Fenglong" can notably decrease the levels of TC and LDL-C, and the protein levels of TNF- α , IL-1 β and IFN- γ in the liver tissues, suggesting its certain therapeutical effectiveness on hyperlipemia.

【Key words】 hyperlipemia; electroacupuncture; Point ST40 (Fenglong); TNF- α ; IL-1 β ; IFN- γ

高脂血症是指由于机体脂类代谢失调而导致血液中一种或几种脂质或成分明显异常。高脂血症是动脉粥样硬化形成的危险因素之一,脂质在血管内皮沉积而引起动脉粥样硬化产生冠心病和周围血管病变,机

体炎症在此类疾病的发生、发展过程中起到关键作用。近几年非药物治疗高脂血症受到重视,尤其是临床应用针刺疗法治疗高脂血症,有了较大的进展,疗效也较为显著,显示出独特的优势^[1]。本实验通过观察电针丰隆穴对高脂血症大鼠肝脏组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)的蛋白水平变化的影响,明确电针通过抑制促炎反应从而达到对高脂血症的治疗作用。

基金项目:国家自然科学基金项目(30873309)

收稿日期:2014-08-31

作者单位:武汉市中西医结合医院,武汉 430022

作者简介:乐薇(1981-),女,主治医师,主要从事针灸穴位效应的基础研究。

通讯作者:张红星, zhxzj99@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 材料 ①实验动物:SPF 级健康 SD 雄性大鼠 30 只,体质量 180~200g,由湖北省动物实验中心提供,动物合格证号为[SCXK(鄂) 2008-0004]。②主要试剂与仪器:大鼠 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 的 ELISA 检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司),OLYMPUS AU2700 型全自动生化分析仪(日本 OLYMPUS 公司),LH202H 型韩氏穴位神经刺激仪(北京华威有限公司),32#1 寸健卫士牌不锈钢针灸针(长 25mm,直径 0.25mm,型号 S3210,中美合作泰成科技发展有限公司)。

1.2 方法 ①分组及处理:30 只大鼠随机分为 3 组:正常组、模型组、电针组,每组 10 只大鼠。正常组:普通饲料喂养 8 周,期间不予任何治疗;模型组:高脂饲料喂养 4 周,造模成功^[2]+高脂饲料继续喂养 4 周,期间不予任何治疗;电针组:高脂饲料喂养 4 周,造模成功+(高脂饲料+电针丰隆穴)4 周。②造模:模型组、电针组大鼠用高脂饲料(猪油 10%,蛋黄粉 5%,胆固醇 1%,丙基硫氧嘧啶 0.2%,脱氧胆酸钠 0.5%,蔗糖 5%,基础饲料 78.3%)喂养^[3]。③治疗方法:取穴参照《实验针灸学》^[4],选取双侧丰隆穴,模拟人体经穴定位。丰隆穴在大鼠膝关节外侧后三里下 1mm,腓骨小头下约 5mm 处。用 32#1 寸针灸针,对丰隆穴直刺 7mm,快速捻转至针下沉涩感后,接韩式穴位神经刺激仪,等幅疏密波,频率为 2~100Hz,电流强度 2mA,以动物肢体微颤为度,每次治疗 30min,每天 1 次,连续 30d。常规温度、湿度及统一饮水喂养。

1.3 评定标准 ①所有大鼠通过腹主动脉采血 4~5ml,送我院检验科,采用全自动生化分析仪,检测血浆中总胆固醇(Total cholesterol,TC)、甘油三酯(Triglyceride,TG)、高密度脂蛋白(High-density lipoprotein cholesterol,HDL-C)、低密度脂蛋白(Low-density lipoprotein cholesterol,LDL-C)含量。②ELISA 检测大鼠肝脏组织炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 的蛋白水平变化:将大鼠肝脏组织加入适量生理盐水捣碎,然后 1000r/min 离心 10min,取上清液。设标准孔 8 孔,每孔中各加入 100 μ l 标准品稀释液,第 1 孔中加入 1000pg/ml 的标准品 100 μ l,混匀后从第 1 孔中用加样器吸出 100 μ l 移至第 2 孔,混匀后用加样器再吸出 100 μ l 移至第 3 孔,如此反复作对倍稀释至第 5 孔,最后,从第 7 孔中吸出 100 μ l 弃去,使之体积均为 100 μ l。第 8 孔为空白对照,在反应板待测品孔中,每孔各加入待测样品 100 μ l;将反应板充分混匀后置 37 $^{\circ}$ C 孵育 120min;用稀释 20 倍后的洗涤液将反应板充分洗涤 5

次,放滤纸上印干;标准孔及待测品孔中各加入第一抗体工作液 50 μ l;将反应板置 37 $^{\circ}$ C 孵育 60min,洗板,每孔各加入酶标抗体工作液 100 μ l;将反应板置 37 $^{\circ}$ C 60min;洗板;每孔各加底物工作液 100 μ l,并将反应板置 37 $^{\circ}$ C 暗处 5~10min;每孔各加入 50 μ l(1 滴)终止液混匀;在 492nm 处测吸光值(OD450)。以标准品的浓度为横轴,OD 值为纵轴在半对数纸上作图,画出标准曲线;根据样品之 OD 值在该曲线上查出相应蛋白含量。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计学软件进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析,继以 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

治疗 30d 后,各组大鼠血脂水平比较,与正常组比较,模型组大鼠 TC、TG 及 LDL-C 均显著升高($P < 0.01, 0.05$),HDL-C 显著降低($P < 0.05$);与正常组比较,电针组的 TC、LDL-C 均显著升高($P < 0.01$),TG、HDL-C 差异无统计学意义。与模型组比较,电针组大鼠 TC、TG 及 LDL-C 均显著降低($P < 0.01, 0.05$),HDL-C 显著升高($P < 0.05$)。见表 1。

各组大鼠肝脏组织炎症因子蛋白水平比较,与正常组比较,模型组炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 均有显著性升高($P < 0.05, 0.01$)。与正常组比较,电针组炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 差异均无统计学意义。与模型组比较,电针组炎症因子均有明显降低($P < 0.05, 0.01$)。见表 2。

表 1 3 组大鼠血脂水平比较 mmol/L, $\bar{x} \pm s$

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常组	10	1.58 $\pm$ 0.36	0.49 $\pm$ 0.21	0.88 $\pm$ 0.28	0.23 $\pm$ 0.07
模型组	10	11.05 $\pm$ 3.01 ^b	0.68 $\pm$ 0.19 ^a	0.62 $\pm$ 0.19 ^a	5.34 $\pm$ 1.11 ^b
电针组	10	4.89 $\pm$ 0.81 ^{bd}	0.51 $\pm$ 0.17 ^c	0.78 $\pm$ 0.12 ^c	1.15 $\pm$ 0.28 ^{bd}

与正常组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

表 2 3 组大鼠肝脏组织炎症因子蛋白水平比较 pg/ml, $\bar{x} \pm s$

组别	n	TNF- α	IL-1 β	IFN- γ
正常组	10	320.65 $\pm$ 101.68	101.33 $\pm$ 55.32	141.85 $\pm$ 87.66
模型组	10	890.37 $\pm$ 109.89 ^b	340.47 $\pm$ 67.68 ^b	267.89 $\pm$ 89.73 ^a
电针组	10	416.32 $\pm$ 102.86 ^d	159.31 $\pm$ 68.57 ^d	179.21 $\pm$ 87.89 ^c

与正常组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

3 讨论

高脂血症是现代医学的名词,中医学并无高脂血症的病名,根据临床表现将其归入“眩晕”、“胸痹”、“血瘀”、“痰湿”等病证范畴^[5]。中医学对于高脂血症的认识源于《内经》的“膏脂学说”,膏源于水谷,属津液之

一,并能化入血中,是人体营养物质之一,脂亦源于水谷,为津液中之精微,过多的脂则形成膏。针灸疗法对脂质及脂蛋白的代谢具有良性的双向调节作用,丰隆穴是经过临床检验的能调节血脂水平的有效经验用穴^[6]。丰隆穴属足阳明胃经的络穴,可以联络胃、脾二经。因此针刺该穴具有“一络通二经”之效,能疏通表里两经之气血,和胃健脾、化痰利湿,为祛痰要穴。

胆固醇是人体生命活动的重要物质基础,它参与构成细胞膜,也是合成体内激素的重要成分之一^[7]。HDL-C 将各组织中的胆固醇转送到肝脏进行代谢,而 LDL-C 的作用是将胆固醇从肝脏运送至全身组织。当 LDL-C 过量时,它携带的胆固醇便积存在动脉血管壁上,诱发动脉粥样硬化,因此 LDL-C 也被称为“坏的胆固醇”^[8]。本研究结果表明,经过 8 周后,模型组大鼠血脂各项指标较正常组均有明显差异性,表明较长时间的高脂饮食导致大鼠体内脂质代谢紊乱,具有严重的危害性。电针组的 TG、HDL-C 与正常组比较没有显著差异性,而且其与模型组比较大鼠血脂各项指标均有明显差异性,说明电针丰隆穴能显著降低 TC、LDL-C 的水平,促进胆固醇从外周组织转送至肝脏,对治疗高脂血症具有非常显著性的效果。

大量研究数据表明^[9],长期血脂代谢异常会导致单核/巨噬细胞的数量增多,加剧血管内皮细胞损伤,脂质代谢清除障碍,这就是炎症的起始阶段。IFN- γ 最初叫巨噬细胞活化因子,可介导 T 细胞对巨噬细胞的激活,促进 IL-1、6、8, TNF- α 等炎症因子的分泌。TNF- α 是介导肝脏损伤的主要因子,在肝脏脂质代谢障碍中扮演了重要角色^[10]。研究表明 TNF- α 可降低胰岛素对其受体的诱导活化,下调胰岛素受体、过氧化酶体增殖物激活受体- γ 等的表达^[11],从而影响葡萄糖和脂肪的代谢。高浓度的 TNF- α 可减少外周组织脂肪分解,并促进肝细胞 TG 的合成及聚集,从而加速肝脏脂肪沉积的进程。IL-1 β 作为炎症细胞分化的主要调节因子,促进激活的巨噬细胞分化和浸润,还能可以上调黏附分子和其他细胞因子的表达,从而加强炎症反应^[12-13]。

本试验显示,与正常组比较,模型组炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 均有显著性升高,提示高脂血症模型大鼠处于炎症状态,炎症因子的表达与血脂水平呈正相关表明血脂异常、炎症反应之间存在着相互诱导、相互协同的密切关系。

国外研究发现他汀类降脂药物具有参与对细胞增殖、凋亡、细胞内信号转导等多种功能的调控、抑制炎症反应等降脂以外的作用^[14]。从本次试验结果:电针组炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 较正常组均无显著

差异性;而与模型组比较,电针组炎症因子均有明显降低。因此,我们可以推论出针刺丰隆穴能有效抑制促炎症因子的释放,通过减轻高脂血症所引发的机体内环境的炎症级联反应,能在一定程度上减缓高脂血症疾病的进展,达到调节血脂的目的,对临床上针刺丰隆穴治疗高脂血症疾病的有效性提供理论支持。

【参考文献】

- [1] 张唐法, 王文俊, 张红星, 等. 电针丰隆穴治疗高脂血症的多中心观察[J]. 中国临床康复, 2006, 10(9): 17-19.
- [2] 王琼, 乐薇, 覃鹏飞, 等. 三种高脂血症实验性大鼠模型的比较[J]. 中国康复, 2010, 25(5): 330-331.
- [3] 张红星, 王琼, 乐薇, 等. 高脂血症大鼠模型建立的动态研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(1): 19-22.
- [4] 邓春雷, 殷克敬. 实验针灸学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998, 147-148.
- [5] 孙丽英, 焦亚斌, 康广盛. 高脂血症的病因病机研究进展[J]. 中医药学报, 2004, 32(2): 70-71.
- [6] 张红星, 张唐法, 蔡国伟. 中医学对高脂血症病因病机及针刺丰隆穴治疗高脂血症的认识[J]. 中国老年病杂志, 2006, 3(3): 138-139.
- [7] 蔡曼波, 李建军, 胡丽, 等. NO-1886 对高脂/高糖/高胆固醇饲养的小型猪组织中肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 1 β 蛋白表达的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(9): 741-746.
- [8] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 267-274.
- [9] 余敏, 肖晓秋, 唐成林, 等. 不同强度电针对肥胖大鼠血脂、脂肪组织巨噬细胞趋化蛋白-1 及肿瘤坏死因子- α 的影响[J]. 针刺研究, 2011, 36(2): 79-84.
- [10] Siasos G, Tousoulis D, Oikonomou E, et al. Inflammatory markers in hyperlipidemia: from experimental models to clinical practice[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(37): 4132-4146.
- [11] Ruan H, Hacohen N, Golub TR, et al. Tumor necrosis factor- α suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes; nuclear factor- κ B activation by TNF- α is obligatory[J]. Diabetes, 2002, 51(5): 1319-1336.
- [12] 马雅荃, 王蓓蓓, 韩俊燕, 等. 高脂血症对炎性免疫应答的影响[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2013, 7(4): 7-10.
- [13] 余再新, 彭道地, 刘琼, 等. 冠心病患者血清 TNF- α 和 Cys C 的水平及血塞通的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(10): 1529-1532.
- [14] Rosenson RS, Tangney CC. Antiatherothrombotic properties of statin: implications for cardiovascular event reduction[J]. JAMA, 1998, 279(20): 1643-1647.