

引用:陈皖倩,康朝霞,崔冬梅.电针经Urocortin1/CRF-R1通路缓解功能性消化不良大鼠十二指肠微炎症[J].中医药导报,2026,32(4):30-35,47.

电针经Urocortin1/CRF-R1通路缓解功能性消化不良大鼠十二指肠微炎症*

陈皖倩,康朝霞,崔冬梅

(贵州中医药大学针灸推拿学院,贵州 贵阳 550025)

[摘要] 目的:探讨电针通过尿皮质素1(Urocortin 1,Ucn1)/促肾上腺皮质激素释放因子受体1(CRF-R1)通路对功能性消化不良(FD)模型大鼠十二指肠组织微炎症的影响。方法:从80只SD大鼠中随机抽取10只为空白组,其余70只采用多因素干预法制备FD模型。造模成功后,分为模型组、电针组、Ucn1组、Ucn1+电针组,每组10只。电针组于“后三里”穴行电针干预,Ucn1组给予尾静脉注射Ucn1(10 μg/kg),Ucn1+电针组则同时接受两种干预,均持续14 d。检测指标包括一般行为评分、小肠推进率、血清白细胞介素-10(IL-10)含量、十二指肠类胰蛋白酶表达,以及下丘脑和十二指肠中Ucn1/CRF-R1的表达与共定位。结果:与模型组比较,电针组大鼠干预后的一般情况评分明显增高($P<0.01$),类胰蛋白酶表达量明显降低($P<0.01$),小肠推进率、血清IL-10含量明显升高($P<0.01$);Ucn1组大鼠一般情况评分无明显差异($P>0.05$),血清IL-10含量明显降低,小肠推进率、类胰蛋白酶表达量均明显增高($P<0.01$);Ucn1+电针组大鼠一般情况评分、类胰蛋白酶表达量无显著性差异($P>0.05$),小肠推进率明显增高($P<0.01$),血清IL-10含量明显降低($P<0.01$)。与电针组比较,Ucn1组大鼠一般情况评分、血清IL-10含量均明显降低($P<0.01$),小肠推进率、类胰蛋白酶表达量均明显增高($P<0.01$);Ucn1+电针组一般情况评分无明显差异($P>0.05$),血清IL-10含量明显降低($P<0.01$),小肠推进率、类胰蛋白酶表达量均明显增高($P<0.01$)。与Ucn1组比较,Ucn1+电针组一般情况评分、血清IL-10含量明显增高($P<0.01$),小肠推进率、类胰蛋白酶表达量均明显降低($P<0.01$)。结论:电针可能通过调控十二指肠Ucn1/CRF-R1通路缓解FD大鼠十二指肠组织微炎症。

[关键词] 功能性消化不良;电针;“后三里”穴;尿皮质素1;促肾上腺皮质激素释放因子受体1;十二指肠;微炎症;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)04-0030-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.04.006

Electroacupuncture Alleviates Duodenal Tissue Micro-inflammation in a Rat Model of Functional Dyspepsia via the Urocortin1/CRF-R1 Signaling Pathway

CHEN Wanqian, KANG Zhaoxia, CUI Dongmei

(School of Acupuncture and Tuina, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou 550025, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of electroacupuncture on micro-inflammation in duodenal tissues of functional dyspepsia (FD) model rats through urocortin1 (Ucn1)/corticotropin-releasing factor receptors 1 (CRF-R1) pathway. Methods: A total of 10 SD rats were randomly selected from 80 SD rats as the blank control group, and the remaining 70 were used to establish a FD model using a multi-factor intervention method. After successful model establishment, the rats were further divided into a model group, a electroacupuncture (EA) group, a Ucn1 group, and a Ucn1+EA group, 10 rats in each group. The EA group received electroacupuncture stimulation at the "Housanli" (后三里) point. The Ucn1 group received tail vein injection of Ucn1 (10 μg/kg). The Ucn1+EA group received both interventions simultaneously. All interventions lasted for 14 days. Measurements included general behavioral scores, small intestinal propulsion rate, serum interleukin-10

*基金项目:贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwbkj2024-350);贵州省研究生教育创新计划项目(2024YJSKYJJ370)

通信作者:康朝霞,女,讲师,研究方向为针灸推拿的基础与应用

(IL-10) level, duodenal tryptase expression, as well as the expression and co-localization of Ucn1/CRF-R1 in the hypothalamus and duodenum. Results: Compared with the model group, the EA group exhibited significantly increased general condition scores ($P<0.01$), and significantly reduced tryptase expression ($P<0.01$), as well as significantly elevated small intestinal propulsion rate and serum IL-10 level. The Ucn1 group showed no significant difference in general condition scores ($P>0.05$), significantly reduced serum IL-10 levels, and significantly increased small intestinal propulsion rate and tryptase expression ($P<0.01$). The Ucn1+EA group demonstrated no significant differences in general condition score and tryptase expression ($P>0.05$), but significantly increased small intestinal propulsion rate ($P<0.01$) and significantly decreased serum IL-10 level ($P<0.01$). Compared with the EA group, the Ucn1 group showed significantly lower general condition scores and serum IL-10 level ($P<0.01$), along with significantly higher small intestinal propulsion rate and tryptase expression ($P<0.01$). The Ucn1+EA group showed no significant difference in general condition score ($P>0.05$), but significantly lower serum IL-10 level ($P<0.01$) and significantly higher small intestinal propulsion rate and tryptase expression ($P<0.01$). Compared with the Ucn1 group, the Ucn1 + EA group displayed significantly higher general condition scores and serum IL-10 level ($P<0.01$), and significantly lower small intestinal propulsion rate and tryptase expression ($P<0.01$). Conclusion: Electroacupuncture may ameliorate micro-inflammation in duodenal tissues of FD rats by modulating the duodenal Urocortin1/CRF-R1 pathway.

[Keywords] functional dyspepsia; electroacupuncture; "Housanli"; urocortin 1; corticotropin-releasing factor receptor 1; duodenum; micro-inflammation; rat

功能性消化不良(functional dyspepsia,FD)是临床上常见的胃肠疾病之一,也是功能性胃病之一。临床上并没有特效药治疗FD,主要是缓解其临床症状,如使用质子泵抑制剂、促胃动力药、抗抑郁药等,但都存在副作用且无法彻底解决FD的症状^[1-2]。FD患者普遍存在十二指肠微炎症的现象,表现出嗜酸性粒细胞、肥大细胞等炎症性细胞数量增多的情况。十二指肠中肥大细胞数量增多,会引起胃肠蠕动和免疫反应,导致十二指肠持续发生炎症反应,增强患者的不良症状。肥大细胞通过局部神经免疫相互作用在大脑和肠道之间形成连接,主要是通过促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin releasing factor, CRF)促进肥大细胞发生活化,释放炎症因子^[3]。电针被证明可以抑制CRF受体1(CRF receptor type 1, CRF-R1)通路降低肥大细胞的活性^[4],但CRF通路的确切机制尚不完全清楚。尿皮质素1(Urocortin 1, Ucn1)是CRF的家族成员, Ucn1通过CRF受体在抑制食欲、免疫调节等方面发挥重要作用^[5],其中CRF-R1可促进肥大细胞脱颗粒,对肠道通透性有着重要的影响^[6]。CRF相关机制会引起胃肠道蠕动和免疫反应的变化,那么电针是否通过对Ucn1/CRF-R1通路参与调节免疫反应,改善FD的临床表现?故本研究采用多因素干预法制备FD大鼠模型,使用CRF-R1受体激动剂,观察电针对FD大鼠的影响,旨在探讨电针对FD大鼠Ucn1/CRF-R1通路的机制研究,为电针治疗FD的可能作用机制提供实验依据,为FD的治疗寻找新靶点。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 采用SPF级健康SD大鼠,80只,8周龄,均为雌性,体质量(230±30)g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2024-0003,动物质量合格证号:110322241101247484。实验所在单位为贵州中医药

大学动物研究所,动物使用许可证编号:SYXK(黔)2021-0005。实验室温度:20~24℃;湿度:40%~60%;光照时长:12 h/d。本研究实验处置符合动物伦理标准及动物实验中心条例,通过贵州中医药大学实验动物伦理审查委员会审查,批件号:20250408007。

1.2 药物与试剂 抗尿皮质素(Anti-Urocortin)/UCN抗体A01807-1(武汉博士德生物工程有限公司,批号:BS240815071); CRF-R1兔多克隆抗体(成都正能生物技术有限责任公司,批号:N27JU61);大鼠白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号:S25844X2289);TPSAB1多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:00137354);大鼠Ucn1(德国Sigma-Aldrich公司,批号:HY-P1296);0.9%氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司,批号:E224072001);活性炭粉(上海麦克林生化科技股份有限公司);羧甲基纤维素钠(上海麦克林生化科技股份有限公司);蔗糖(昆明怡润食品厂,批号:GB13104);玉米淀粉(上海麦克林生化科技股份有限公司);脱脂奶粉(内蒙古伊利实业集团股份有限公司,批号:GB19644)。

1.3 主要仪器 一次性无菌针灸针(苏州医疗用品厂有限公司,批号:246071);英迪脉冲电针仪(衡水玉婉医疗器械商贸有限公司,型号:KWD-8081);酶标仪(北京普朗医疗设备有限公司,型号:DNM9602G);金属浴(Scilogex,型号:HB120-S);电动匀浆器[天根生化科技(北京)有限公司,型号:OSE-Y300];超薄切片机(徕卡显微系统有限公司,型号:UC-7);数码相机记录图像(德国蒙斯特,型号:morada G3);低温离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司,型号:Ministar)。

1.4 造模与分组 从80只SPF级SD雄性大鼠中随机抽取10只

作为空白组,其余70只采用多因素干预法制备FD模型,即不规则饮食法+冰生理盐水灌胃+郭氏夹尾刺激^[7]。不规则饮食法:即单日(日期号为奇数)给食,双日(日期号为偶数)禁食,饮水不受限制,持续14 d。冰生理盐水灌胃:每天上午和下午同一时间进行0℃的生理盐水灌胃(2 mL/只),连续不间断14 d。郭氏夹尾刺激:每天上午和下午同一时间对大鼠进行进行夹尾刺激,持续30 min,连续14 d。造模后,大鼠毛发凌乱、颜色偏黄,反应迟钝,排便质稀、发臭,蜷缩于角落,即提示造模成功。造模成功后,将大鼠随机分成模型组、电针组、Ucn1组、Ucn1+电针组,每组各10只,分别施加相应的干预措施。

1.5 实验给药及干预 电针组:参照《实验针灸学》^[8]的标准,结合该穴位图谱的特色和意义取“后三里”穴。“后三里”穴定位:膝关节后外侧,在腓骨小头下约5 mm处。在针刺治疗前,对针刺穴位进行消毒,采用自制的大鼠鼠耳固定大鼠,使用华佗牌0.25 mm×25.00 mm不锈钢毫针,对大鼠双侧“后三里”穴行电针刺激,直刺7 mm。同时,在每侧“后三里”穴位水平旁开,取胃经(胫骨外侧缘)与胆经(腓骨前缘)连线的中点,直刺3 mm,作为辅助电极。连接HANS LH202H型电针治疗仪行电针刺激:疏密波,频率2 Hz/15 Hz,强度0.5 mA,留针30 min(以大鼠肌肉轻微震颤为主)。每天上午同一时间段进行电针刺激,双侧交替,连续14 d。

Ucn1组:每天各进行一次尾静脉注射大鼠Ucn1(10 μg/kg),连续14 d。CRF-R1受体激动剂配置及使用方法:选用大鼠Ucn1,使用0.9%氯化钠溶液,质量浓度为6.67 μg/mL的溶液,按照10 μg/kg的剂量,尾静脉注射,1次/d。

Ucn1+电针组:造模成功后,进行尾静脉注射方法同Ucn1组,注射30 min后再给予电针干预,电针干预方法过程同电针组,连续14 d。

其余各组抓取频次与固定时间均同电针组,但固定后不接受电针干预。

1.6 观察指标

1.6.1 取材及处死方法 干预结束后,大鼠在取材前禁食24 h,但可以自由饮水。禁食结束后取营养半固体糊,以2 mL/只对各组大鼠进行灌胃,灌胃结束30 min后根据大鼠体质量,通过腹腔注射舒泰50,对大鼠进行腹腔注射,待大鼠麻醉后,将腹部朝上将头部及四肢用棉线固定在鼠板上,剖开腹腔,取腹主动脉血10 mL,取血后大鼠自然死亡。血液样本室温静置30 min凝血后,于4℃以3 000×g离心15 min,取上层血清,将血清装至EP管中,-80℃冰箱冷冻待测。

腹主动脉取血后,打开腹腔取出肠段,用生理盐水漂洗数次,剪取距幽门上部的十二指肠,剪切为2份,一份用4%中性甲醛固定,一份用戊二醛固定,用于后期检测。

1.6.2 一般行为学观察 对各组大鼠在造模前、造模后及干

预后的整体状态进行观察与记录,从毛发状况、活动灵敏度、进食行为及体质量变化4个方面综合评估大鼠的状态,并对每个方面进行评分,每只大鼠4项评分总和即为该大鼠一般情况评分,用于比较造模后各组之间的差异。具体评分标准如表1^[9]。

1.6.3 胃肠动力情况

1.6.3.1 小肠推进率 刨开腹腔,取出肠段,将肠段拉直后测量从幽门到黑色营养半固体糊前进的距离(L₁)及幽门至回盲部的距离(L₂)。小肠推进率=L₁/L₂×100%。

1.6.3.2 免疫荧光双标检测下丘脑和十二指肠中Ucn1/CRF-R1的整体表达和共定位情况 将组织切片依次用二甲苯处理2次(15 min/次),无水乙醇浸泡2次(15 min/次)、85%乙醇(5 min)、75%乙醇(5 min),最后用蒸馏水清洗。将切片放入EDTA缓冲液(pH值为9.0)中,加热至沸腾后静置10 min,再以中低火加热至沸腾。冷却后,移至PBS缓冲液,轻轻晃动洗涤3次(5 min/次)。除去多余液体,加入3% BSA溶液,封闭30 min。甩掉封闭液后,滴加稀释的一抗,平放于湿盒内,4℃孵育过夜。将切片置于PBS缓冲液中轻轻晃动洗涤3次(5 min/次),甩干后滴加匹配的二抗,孵育50 min。重复PBS洗涤步骤后,滴加DAPI染液,孵育10 min。重复PBS洗涤步骤后,使用抗荧光淬灭封片剂封片。将切片置于倒置荧光显微镜下观察并采集图像。

1.6.4 十二指肠和血清中的炎症情况

1.6.4.1 免疫组化法检测十二指肠中类胰蛋白酶的表达 脱蜡过程同免疫荧光双标的脱蜡过程。将切片放于柠檬酸缓冲液中,加热至沸腾时断电,静置后再次加热至沸腾。冷却后用PBS缓冲液振荡洗涤3次(5 min/次)。将切片置于过氧化氢溶液中(25 min),随后用PBS缓冲液振荡洗涤3次(5 min/次)。除去多余液体,加入3%牛血清白蛋白(BSA)溶液,封闭30 min。除去封闭液后,添加稀释后的一抗,以4℃孵育过夜。采用PBS缓冲液振荡洗涤3次(5 min/次),甩干并滴加辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗,室温孵育50 min。用PBS缓冲液振荡洗涤3次(5 min/次),甩干后滴加二氨基联苯胺(DAB)显色液,观察并控制显色时间,阳性结果呈棕黄色,显色结束后,自来水冲洗终止显色。用Harris苏木素复染细胞核3 min,冲洗后用1%盐酸酒精分化数秒钟,再次冲洗后使用氨水使细胞返蓝,流水彻底冲洗。将切片依次浸入75%、85%乙醇各6 min,无水乙醇I、II各6 min,二甲苯I 5 min以完成脱水透明处理,晾干后用中性树胶封片。显微镜检查切片,采集图像并分析计算类胰蛋白相对表达量。类胰蛋白相对表达量=光密度值/面积(IOD/Area)。

1.6.4.2 ELISA法检测血清中IL-10的含量 按试剂盒说明书稀释标准品和待测样本,在标准孔加入100 μL稀释标准品,空白孔加入100 μL稀释液,样本孔加入100 μL待测样品孵育90 min。向各孔加入100 μL生物素化抗体工作液,使用封板膜

表1 一般情况观察评分表

项目	5分	3分	1分
毛发状况	毛发光亮顺滑且浓密者	毛发偏黄黯淡、凌乱,易打结,且有轻微掉发现象	毛发枯黄杂乱,无光泽,且大量掉毛
活动灵敏性	精神饱满、活跃好动,且抓捕反应迅速、攻击性强	精神欠佳、活动减少、喜欢扎堆,且抓捕反应迟钝、攻击性下降	精神萎靡、基本不动,蜷缩于角落,且抓捕时几乎不挣扎
进食行为	正常进食、食欲旺盛,且进食量逐渐增加	食欲一般,进食量略有减少	几乎不进食、无食欲,且进食量显著减少
体质量变化	体质量正常增长	体质量无明显变化,甚至略有下降	体质量显著下降并出现负增长

覆盖孵育1 h。每孔加350 μ L洗涤液,浸泡1~2 min后甩干,重复3次。各孔加入100 μ L酶结合物工作液,封板膜覆盖孵育30 min。按前述方法洗板5次。各孔加入90 μ L底物溶液,封板膜覆盖,孵育15 min。加入50 μ L终止液停止反应。立即用酶标仪在450 nm波长下测量吸光度值。

1.7 统计学方法 使用ImageJ软件处理图片,应用SPSS 26.0进行数据统计分析和GraphPad Prism 9.5软件进行统计学分析。计量资料以“均数 \pm 标准差”($\bar{x}\pm s$)表示,重复测量资料采用重复测量方差分析。小肠推进率、IL-10等计量资料数据若符合正态性及方差齐性,采用单因素方差分析,多重比较采用LSD-*t*检验;若有一项不符合,则采用多个独立样本秩和检验进行统计处理。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠一般情况评分比较 造模前各组大鼠一般情况评分无明显差异($P>0.05$);造模后,与空白组比较,模型组大鼠一般情况评分明显降低($P<0.01$)。干预后,与空白组比较,模型组大鼠一般情况评分明显降低($P<0.01$);与模型组比较,电针组大鼠一般情况评分明显增高($P<0.01$),Ucn1组和Ucn1+电针组大鼠无明显差异($P>0.05$);与电针组比较,Ucn1组大鼠一般情况评分明显降低($P<0.01$),Ucn1+电针组大鼠无明显差异($P>0.05$);与Ucn1组比较,Ucn1+电针组大鼠一般情况评分明显增高($P<0.05$)。

空白组大鼠一般情况评分在造模前、造模后和干预后无明显差异($P>0.05$);造模后模型组、电针组、Ucn1组和Ucn1+电针组大鼠一般情况评分明显低于造模前($P<0.01$);干预后电针组、Ucn1+电针组大鼠一般情况评分明显高于造模后($P<0.01$)。(见表2、图1)

表2 各组大鼠一般情况评分比较 ($\bar{x}\pm s$,分)

组别	<i>n</i>	造模前	造模后	干预后	<i>F</i>	<i>P</i>
空白组	6	19.667 \pm 0.817	19.667 \pm 0.817	19.667 \pm 0.817	0.001	1.000
模型组	6	19.333 \pm 1.033	7.333 \pm 2.066 ^{a,c}	7.333 \pm 1.033 ^a	73.462	0.000
电针组	6	19.667 \pm 0.817	9.333 \pm 2.733 ^c	15.333 \pm 2.732 ^{b,f}	74.270	0.000
Ucn1组	6	19.667 \pm 0.817	8.333 \pm 2.658 ^c	8.333 \pm 2.658 ^c	65.526	0.000
Ucn1+电针组	6	19.333 \pm 1.033	8.333 \pm 2.658 ^c	12.667 \pm 2.422 ^{d,f}	62.915	0.000
<i>F</i>		0.242	29.611	35.015		
<i>P</i>		0.910	0.000	0.000		

注: $F_{\text{时间主效应}}=182.193$, $P_{\text{时间主效应}}=0.000$; $F_{\text{分组主效应}}=33.866$, $P_{\text{分组主效应}}=0.019$; $F_{\text{交互效应}}=25.500$, $P_{\text{交互效应}}=0.001$;与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与电针组比较,^c $P<0.01$;与Ucn1组比较,^d $P<0.01$;与造模前比较,^e $P<0.01$;与造模后比较,^f $P<0.01$ 。

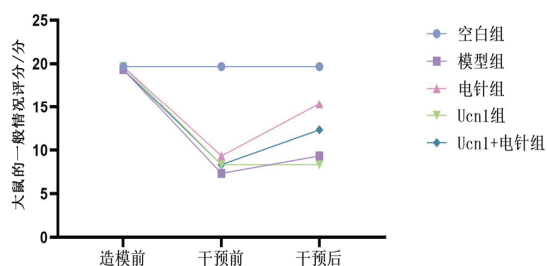


图1 各组大鼠一般情况评分比较

2.2 各组大鼠小肠推进率比较 与空白组比较,模型组的小肠推进率明显降低($P<0.01$);与模型组比较,电针组、Ucn1组、Ucn1+电针组的小肠推进率明显增高($P<0.01$);与电针组比较,Ucn1组和Ucn1+电针组的小肠推进率明显增高($P<0.01$);与Ucn1组比较,Ucn1+电针组的小肠推进率明显降低($P<0.01$)。(见表3)

表3 各组大鼠小肠推进率比较 ($\bar{x}\pm s$)

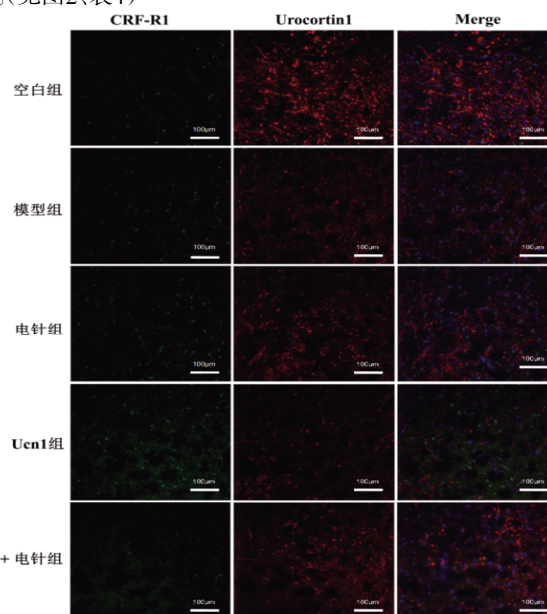
组别	<i>n</i>	小肠推进率/%
空白组	6	72.850 \pm 3.363
模型组	6	55.169 \pm 2.594 ^a
电针组	6	62.487 \pm 2.873 ^b
Ucn1组	6	91.854 \pm 4.873 ^{b,c}
Ucn1+电针组	6	83.322 \pm 2.509 ^{b,c,d}
<i>F</i>		118.540
<i>P</i>		0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与电针组比较,^c $P<0.01$;与Ucn1组比较,^d $P<0.01$ 。

2.3 各组大鼠下丘脑和十二指肠中Ucn1/CRF-R1的整体表达和共定位情况比较

2.3.1 Ucn1/CRF-R1的整体表达比较 各组大鼠下丘脑和十二指肠中Ucn1和CRF-R1的免疫荧光染色见图2~3,Ucn1和CRF-R1的半定量分析结果见表4。

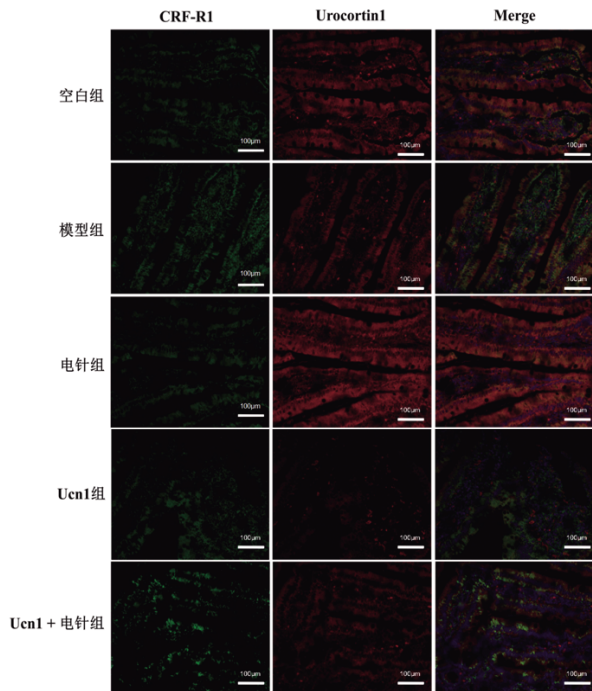
在下丘脑中,与空白组比较,模型组大鼠Ucn1和CRF-R1明显升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组大鼠Ucn1和CRF-R1明显降低($P<0.01$),Ucn1组大鼠Ucn1和CRF-R1明显增高($P<0.01$),Ucn1+电针组大鼠Ucn1明显增高($P<0.01$),CRF-R1降低($P<0.01$);与电针组比较,Ucn1组大鼠Ucn1和CRF-R1明显增高($P<0.01$),Ucn1+电针组大鼠CRF-R1明显增高($P<0.01$);与Ucn1组比较,Ucn1+电针组大鼠Ucn1和CRF-R1明显降低($P<0.01$)。(见图2、表4)



注:Ucn1染色阳性为红色,CRF-R1的染色为绿色。

图2 各组大鼠下丘脑中Ucn1和CRF-R1的免疫荧光染色图($\times 200$)

在十二指肠中,与空白组比较,模型组大鼠Ucn1和CRF-R1明显升高($P<0.01$);与模型比较,电针组大鼠Ucn1和CRF-R1明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),Ucn1组大鼠Ucn1和CRF-R1明显增高($P<0.01$),Ucn1+电针组大鼠Ucn1明显高($P<0.01$),CRF-R1明显降低($P<0.05$);与电针组比较,Ucn1组、Ucn1+电针大鼠Ucn1和CRF-R1明显增高($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与Ucn1组比较,Ucn1+电针组大鼠Ucn1和CRF-R1明显降低($P<0.01$)。(见图3、表4)



注:Ucn1染色阳性为红色,CRF-R1的染色为绿色。

图3 各组大鼠十二指肠中Ucn1和CRF-R1的免疫荧光染色图($\times 200$)

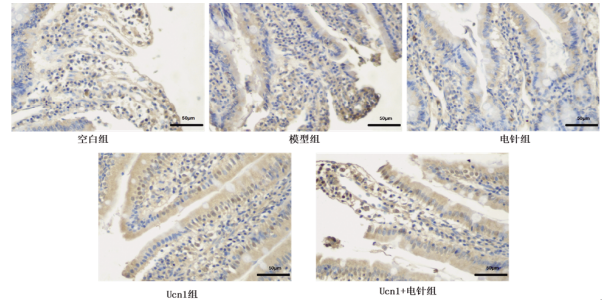
表4 各组大鼠Ucn1和CRF-R1在下丘脑、十二指肠中平均荧光强度比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Ucn1平均荧光强度		CRF-R1平均荧光强度	
		下丘脑	十二指肠	下丘脑	十二指肠
空白组	6	0.505±0.022	0.618±0.059	0.684±0.029	0.575±0.132
模型组	6	0.763±0.053 ^a	0.952±0.059 ^a	1.064±0.054 ^a	0.998±0.038 ^a
电针组	6	0.627±0.029 ^b	0.799±0.057 ^b	0.843±0.017 ^b	0.715±0.029 ^b
Ucn1组	6	1.274±0.171 ^{b,d}	1.308±0.131 ^{b,d}	1.418±0.193 ^{c,d}	1.311±0.095 ^{b,d}
Ucn1+电针组	6	0.907±0.055 ^{b,d,f}	1.113±0.025 ^{b,d,f}	0.906±0.041 ^{b,f}	0.856±0.071 ^{c,f}
F		73.332	76.726	54.156	70.981
P		0.000	0.000	0.000	0.000

注:空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$;与电针组比较,^d $P<0.01$,^e $P<0.05$;与Ucn1组比较,^f $P<0.01$ 。

2.3.2 Ucn1/CRF-R1的共定位情况比较 在免疫荧光共定位中Pearson系数大于0.5说明存在共定位现象,小于0.55则说明不存在共定位或共定位现象不明显。免疫荧光共定位结果显示,在下丘脑中,空白组、模型组、电针组、Ucn1组、Ucn1+电针组的Pearson系数分别为0.51、0.60、0.54、0.56、0.54;在十二指肠中,空白组、模型组、电针组、Ucn1组、Ucn1+电针组的Pearson系数分别为0.50、0.60、0.56、0.70、0.63。(见图2~3)

2.4 各组大鼠十二指肠中类胰蛋白酶表达比较 与空白组比较,模型组大鼠类胰蛋白酶表达量升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组大鼠类胰蛋白酶的表达量降低($P<0.01$),Ucn1组大鼠类胰蛋白酶的表达量升高($P<0.01$);与电针组比较,Ucn1组、Ucn1+电针组大鼠类胰蛋白酶的表达量升高($P<0.01$);与Ucn1组比较,Ucn1+电针组大鼠类胰蛋白酶的表达量降低($P<0.01$)。(见图4、表5)



注:类胰蛋白酶染色阳性产物为黄棕色。

图4 各组大鼠十二指肠中类胰蛋白酶免疫组化($\times 400$)

表5 各组大鼠十二指肠类胰蛋白酶相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	类胰蛋白酶相对表达量
空白组	6	0.105±0.028
模型组	6	0.160±0.010 ^a
电针组	6	0.112±0.020 ^b
Ucn1组	6	0.254±0.031 ^{b,c}
Ucn1+电针组	6	0.162±0.035 ^{c,d}
F		30.758
P		0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与电针组比较,^c $P<0.01$;与Ucn1组比较,^d $P<0.01$ 。

2.5 各组大鼠血清IL-10含量比较 与空白组比较,模型组大鼠血清IL-10含量明显降低($P<0.01$);与模型组比较,电针组大鼠血清IL-10含量明显升高($P<0.01$),Ucn1组、Ucn1+电针组血清IL-10含量明显降低($P<0.01$);与电针组比较,Ucn1组和Ucn1+电针组血清IL-10含量明显降低($P<0.01$);与Ucn1组比较,Ucn1+电针组血清IL-10含量明显增高($P<0.01$)。(见表6)

表6 各组大鼠血清IL-10含量比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

组别	n	IL-10
空白组	6	2.283±0.109
模型组	6	1.244±0.055 ^a
电针组	6	1.716±0.193 ^b
Ucn1组	6	0.785±0.073 ^{b,c}
Ucn1+电针组	6	1.027±0.056 ^{b,c,d}
F		176.363
P		0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与电针组比较,^c $P<0.01$;与Ucn1组比较,^d $P<0.01$ 。

3 讨论

FD的发病与十二指肠低度炎症密切相关,其主要特征包括上皮内淋巴细胞浸润、嗜酸性粒细胞增多及黏膜屏障完整性受损^[9]。前期研究^[11]表明,FD模型大鼠炎症因子明显增高,

在这一过程中,肥大细胞作为关键效应细胞发挥核心作用。临床研究表明,FD患者十二指肠组织中肥大细胞数量显著增多^[12],且胃黏膜活检中组胺和类胰蛋白酶释放水平上升^[13]。除此以外,FD模型大鼠的肥大细胞、嗜酸性粒细胞明显增多,促炎因子的表达也明显增多,均提示微炎症在FD中的作用^[14]。类胰蛋白酶作为肥大细胞颗粒中含量最丰富的丝氨酸蛋白酶,在上皮屏障破坏中具有重要作用。它可通过影响紧密连接蛋白,从而显著增加肠道通透性^[15]。与此同时,抗炎因子IL-10在该过程中表现出双重调节作用:既有研究显示其可增强IgE介导的肥大细胞活性^[16],亦使肠道通透性增高^[17]。有研究^[18]表明,CRF可刺激肥大细胞释放白三烯、细胞因子及类胰蛋白酶等介质,进而影响十二指肠功能。而电针疗法具有通过调控CRF通路缓解胃肠道疾病的潜力,如:在FD模型中,电针内关、公孙穴可下调下丘脑CRF-R1和CRF-R2蛋白表达^[19],电针足三里穴有助于恢复异常的CRF的表达^[20]。Ucn1作为CRF家族成员是否通过调控肥大细胞活化影响FD病理进程,目前尚不明确。

研究表明,与空白组比较,模型组大鼠小肠推进率及血清IL-10含量显著降低,这些变化反映了FD典型的胃肠动力紊乱和十二指肠低度炎症状态,表明FD模型复制成功。电针干预能够显著改善上述指标。下丘脑是应激反应的高级整合中枢,而Ucn1是促应激肽。中枢Ucn1/CRF-R1系统过度激活可通过“脑-肠轴”机制,同时,外周十二指肠的Ucn1/CRF-R1系统也可被局部应激或炎症激活,使肥大细胞活化,释放类胰蛋白酶等炎症介质,破坏肠道屏障功能。本研究中,电针同时下调了下丘脑和十二指肠中的Ucn1和CRF-R1的过度表达。此外免疫荧光共定位显示,电针降低了十二指肠中Ucn1与CRF-R1的结合程度,提示电针可能直接干扰该通路的信号传导。

而外源性补充Ucn1加剧了肠道功能障碍和炎症反应。这表明外源性Ucn1通过激活CRF-R1受体。在Ucn1+电针组的结果中,电针逆转了部分Ucn1的负面作用,但效果不及电针组。这提示电针可能并非完全阻断Ucn1的合成,而是与Ucn1之间存在一种竞争性或部分性拮抗关系。这可能与只使用了外周注射激动剂,未使用中枢注射激动剂有关。电针可能通过下调CRF-R1受体的表达或亲和力,降低组织对Ucn1信号的敏感性。

综上所述,电针刺激能够有效缓解FD模型大鼠的十二指肠微炎症和胃肠动力障碍,其机制可能与下调下丘脑和十二指肠组织中的Ucn1及CRF-R1表达,并破坏二者在十二指肠组织的特异性结合,进而抑制肥大细胞活化、促进抗炎因子IL-10释放有关。外源性Ucn1可加重FD十二指肠中炎症反应并拮抗电针疗效,而电针又能部分逆转Ucn1带来的炎症反应,共同证实了该通路在FD十二指肠微炎症中发挥关键作用。本研究的局限性在于尚未使用CRF-R1特异性拮抗剂进行更深入的机制验证,且激动剂的使用仅为外周注射,未探讨中枢注射后对FD的影响。未来研究可结合基因敲减技术或补充受体拮抗剂,进一步明确电针作用于该通路的精确靶点,并为临床将电针发展为一种通过调节“脑-肠轴”治疗FD的有

效策略提供更坚实的实验依据。

参考文献

- [1] BLACK C J, PAINE P A, AGRAWAL A, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the management of functional dyspepsia[J]. *Gut*, 2022, 71(9): 1697-1723.
- [2] MIWA H, NAGAHARA A, ASAKAWA A, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for functional dyspepsia 2021[J]. *J Gastroenterol*, 2022, 57(2): 47-61.
- [3] SANTOS J, YATES D, GUILARTE M, et al. Stress neuropeptides evoke epithelial responses via mast cell activation in the rat colon[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2008, 33(9): 1248-1256.
- [4] 王楷.电针调节肥大细胞源性外泌体microRNA改善IBS-D大鼠肠上皮屏障的机制研究[D].成都:成都中医药大学, 2023: 170.
- [5] GUO X L, LI Y, CHEN X Y, et al. Urocortin-1 promotes colorectal cancer cell migration and proliferation and inhibits apoptosis via inhibition of the p53 signaling pathway[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2024, 150(3): 163.
- [6] QI J W, ZHANG X, LI Y, et al. The suppression effects of feeding and mechanisms in CRF system of animals[J]. *Gene*, 2020, 733: 144363.
- [7] 王丹.电针调控TLR4/NF- κ B p65通路改善FD大鼠十二指肠黏膜屏障损伤机制研究[D].武汉:湖北中医药大学, 2021: 175.
- [8] 余曙光,徐斌.实验针灸学[M].3版.北京:人民卫生出版社, 2021.
- [9] 范建超.基于EPAC1/PIEZO2轴介导电针调节功能性消化不良大鼠内脏高敏感性的机制研究[D].武汉:湖北中医药大学, 2022: 202.
- [10] CEULEMANS M, JACOBS I, WAUTERS L, et al. Immune activation in functional dyspepsia: Bystander becoming the suspect[J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 831761.
- [11] 崔冬梅,陈皖倩,康朝霞.基于外泌体探讨电针对功能性消化不良大鼠十二指肠炎症及IKK/NF- κ B信号通路的影响[J].*中医导报*, 2024, 30(12): 38-43, 52.
- [12] WAUTERS L, DICKMAN R, DRUG V, et al. United European Gastroenterology (UEG) and European Society for Neurogastroenterology and Motility (ESNM) consensus on functional dyspepsia[J]. *United European Gastroenterol J*, 2021, 9(3): 307-331.
- [13] 赵静怡,郑金粟,王梓淞,等.和肝汤颗粒通过调控转录因子蛋白家族核因子 κ B信号途径改善功能性消化不良十二指肠微炎症[J].*环球中医药*, 2024, 17(12): 2418-2425.
- [14] 刘彤.基于CRF信号通路探讨脑肠互动途径下电针合募配穴治疗功能性消化不良的临床疗效及机制研究[D].长春:长春中医药大学, 2024.

(下转第47页)

- [13] 徐天舒,张芸阳,柴王静,等.大蒜素调节TLR4/MyD88/NF- κ B通路改善ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化作用[J].中草药,2024,55(19):6636-6644.
- [14] LI H, YU X H, OU X, et al. Hepatic cholesterol transport and its role in non-alcoholic fatty liver disease and atherosclerosis[J]. Prog Lipid Res,2021,83:101109.
- [15] WANG H H, GARRUTI G, LIU M, et al. Cholesterol and lipoprotein metabolism and atherosclerosis: Recent advances in reverse cholesterol transport[J]. Ann Hepatol, 2017,16(Suppl 1):s27-s42.
- [16] 孟徐兵,麻京豫,赵凤婷,等.铁死亡与动脉粥样硬化关系及中药治疗的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志, 2025,23(2):228-232.
- [17] 李苑榆,龙清吟,傅馨莹,等.黄芪-当归配伍对小鼠动脉粥样硬化模型血管损伤的影响[J].中国病理生理杂志, 2023,39(9):1586-1595.
- [18] 彭熙炜,阎卉芳,黄娟,等.黄芪-当归配伍对大鼠血管内膜增生模型炎性反应的影响[J].中华中医药杂志,2019,34(2):580-584.
- [19] 徐春林.鸡肝脏脂质转运关键基因的鉴定及表达调控研究[D].郑州:河南农业大学,2016.
- [20] 刘军平,潘永明,陈民利,等.白毛黑眼兔与日本大耳白兔胰岛素抵抗动脉粥样硬化模型的比较[J].中国实验动物学报,2019,27(3):339-346.
- [21] 薛锋,薛明明.AMPK在动脉粥样硬化中的作用[J].疾病监测与控制,2016,10(2):120-122.
- [22] 郑学斌,黄玉艳.香菇多糖对ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块形成及AMPK信号通路的影响[J].中国免疫学杂志, 2024,40(7):1411-1415.
- [23] ENGELKING L J, CANTORIA M J, XU Y C, et al. Developmental and extrahepatic physiological functions of SREBP pathway genes in mice[J]. Semin Cell Dev Biol, 2018,81:98-109.
- [24] 刘紫薇,陈以国,董宝强,等.针刺对ApoE^{-/-}小鼠胆固醇代谢相关蛋白ABCG5、ABCG8、SREBP2及NPC1L1表达的影响[J].中国中医基础医学杂志,2023,29(6):939-944.
- [25] 刘榕,刘鹏,李志,等.枳椇保肝降脂方通过调控PPAR α -LXR α -ABCA1信号通路对酒精性肝病大鼠胆固醇代谢的影响[J].中成药,2024,46(12):4164-4169.
- [26] 叶丹,马晓宇,钊浩然,等.芳香新塔花总黄酮通过调控PPAR γ /LXR α /ABCA1通路对ApoE^{-/-}动脉粥样硬化小鼠肝脏脂质代谢紊乱的影响[J].中成药,2023,45(11):3577-3582.

(收稿日期:2025-08-09 编辑:蒋凯彪)

(上接第35页)

- [15] POLUKORT S H, ROVATTI J, CARLSON L, et al. IL-10 enhances IgE-mediated mast cell responses and is essential for the development of experimental food allergy in IL-10-deficient mice[J]. J Immunol,2016,196(12):4865-4876.
- [16] MADSEN K L, MALFAIR D, GRAY D, et al. Interleukin -10 gene -deficient mice develop a primary intestinal permeability defect in response to enteric microflora[J]. Inflamm Bowel Dis,1999,5(4):262-270.
- [17] CHICHLOWSKI M, WESTWOOD G S, ABRAHAM S N, et al. Role of mast cells in inflammatory bowel disease and inflammation-associated colorectal neoplasia in IL-10-deficient mice[J]. PLoS One,2010,5(8):e12220.
- [18] GROSCHWITZ K R, AHRENS R, OSTERFELD H, et al. Mast cells regulate homeostatic intestinal epithelial migration and barrier function by a chymase/Mcpt4-dependent mechanism [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(52):22381-22386.
- [19] 向荣兰,梁芳园,刘素珍,等.不同频率电针“足三里”对肠易激综合征小鼠内脏敏感性及促肾上腺皮质激素释放因子表达的影响[J].针刺研究,2025,11(3):1-10.
- [20] 伍萍香,江钰,覃思敏,等.电针内关、公孙穴对功能性消化不良大鼠下丘脑促肾上腺皮质激素释放因子及其受体的影响[J].中华中医药杂志,2023,38(7):3343-3347.

(收稿日期:2025-09-23 编辑:刘国华)