

电针“足三里”通过改善迷走传入钝化抑制高脂饮食小鼠摄食的研究

陆丽青¹, 李可², 徐天成¹, 陆梦江¹, 姜劲峰¹, 徐斌¹, 余芝¹, 侯莉莉³, 王亚玲¹

[¹南京中医药大学针药结合教育部重点实验室, 南京 210023; ²南京中医药大学第一附属医院 (江苏省中医院), 南京 210029; ³南京市妇幼保健院, 南京 210004]

【摘要】 目的:探讨电针“足三里”对短期高脂饮食暴露小鼠摄食的影响及改善胃迷走神经传入信号损伤的机制。方法:本实验分为两部分。第一部分将42只SPF级雄性C57BL/6J小鼠随机分为正常组14只和高脂饮食组28只,分别予以普通饲料和高脂饲料喂养。4周后,将高脂饮食组小鼠随机分为高脂组和电针组,每组14只。电针组于双侧“足三里”进行干预,刺激参数为2 mA, 2 Hz/15 Hz, 20 min/次, 1次/d, 6次/周,连续2周,每周记录小鼠体质量。干预结束后,记录24 h摄食量、肝脏湿重、腹股沟皮下白色脂肪(iWAT)湿重、附睾白色脂肪(eWAT)湿重;此外,利用酚红餐检测胃排空率,采用ELISA法检测小鼠血清胆囊收缩素(CCK)浓度,Western blot法检测胃窦部蛋白基因产物9.5(PGP9.5)与降钙素基因相关肽(CGRP)的蛋白表达水平,免疫荧光染色法检测胃窦部PGP9.5和CGRP的共表达密度指数及结状神经节内细胞癌基因Fos蛋白(c-Fos)阳性神经元数量。在实验的第二部分,另外选取32只SPF级雄性C57BL/6J小鼠以高脂饮食喂养4周后,将其随机分为假手术组、假手术+电针组、手术组及手术+电针组4组,每组8只,手术组进行胃迷走神经切除手术。穴位及干预参数同上。检测各组小鼠体质量、24 h摄食量、肝脏湿重、iWAT湿重、eWAT湿重、胃窦部PGP9.5和CGRP的共表达及结状神经节内c-Fos阳性神经元数量。结果:与正常组比较,短期高脂饮食喂养的小鼠体质量、肝脏湿重及脂肪湿重升高($P<0.05$),胃排空率及血清CCK浓度降低($P<0.05$),胃窦部的PGP9.5和CGRP蛋白相对表达量均下调($P<0.05$),胃窦部PGP9.5与CGRP共表达密度指数下调($P<0.05$),神经节内的c-Fos阳性神经元数量减少($P<0.05$)。与高脂组比较,电针能降低小鼠体质量、24 h摄食量($P<0.05$),并降低肝脏及脂肪组织湿重($P<0.05$),同时上调胃排空率和血清CCK水平($P<0.05$),上调胃窦部的PGP9.5和CGRP蛋白相对表达量($P<0.05$)及PGP9.5与CGRP共表达密度指数($P<0.05$),增加神经节内的c-Fos阳性神经元数量($P<0.05$)。在胃迷走神经切除小鼠中,与假手术组相比,假手术+电针组小鼠的体质量、摄食量、肝脏及脂肪湿重明显下降($P<0.05$);而行迷走神经胃支切除术后,电针对体质量、摄食量、肝脏等指标的调节效应减弱,同时,术后电针对胃窦部PGP9.5及CGRP共表达水平和神经节内c-Fos阳性神经元数量的调节作用均不明显。结论:高脂饮食会导致胃迷走传入信号钝化,表现为胃局部迷走感觉神经受损和结状神经节激活神经元数量下降。电针能通过修复胃迷走神经传入信号抑制摄食。

【关键词】 电针;高脂饮食;摄食;胃迷走传入;足三里

Electroacupuncture at “Zusanli” (ST36) suppresses food intake in high-fat diet-fed mice by improving vagal afferent desensitization

LU Li-qing¹, LI Ke², XU Tian-cheng¹, LU Meng-jiang¹, JIANG Jin-feng¹, XU Bin¹, YU Zhi¹, HOU Li-li³, WANG Ya-ling¹
(¹Key Laboratory of Acupuncture and Pharmacy Integration of the Ministry of Education, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; ²The First Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine [Jiangsu

[DOI] 10.13702/j.1000-0607.20251001

引用格式:陆丽青,李可,徐天成,等.电针“足三里”通过改善迷走传入钝化抑制高脂饮食小鼠摄食的研究[J].针刺研究,2026,51(6):688-697.

项目来源:国家自然科学基金项目(No.82374577、82575237、82305375、82305376);江苏省妇幼保健协会科研项目(No.FYX202214);江苏省研究生科研与实践创新计划项目(No.KYCX25_2322)

通信作者:王亚玲, E-mail:270566@njucm.edu.cn

Province Hospital of Chinese Medicine], Nanjing 210029; ³Nanjing Women and Children's Healthcare Hospital, Nanjing 210004)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the mechanism by which electroacupuncture (EA) at “Zusanli” (ST36) ameliorates the impairment of feeding behavior and gastric vagal afferent signaling induced by short-term high-fat diet (HFD) exposure. **Methods** The study comprised two parts. In part 1, 42 SPF male C57BL/6J mice were randomly divided into a normal diet (ND) group ($n=14$) and an HFD group ($n=28$). After 4 weeks, HFD-fed mice were subdivided into an HFD group and an EA group ($n=14$ each). The EA group received EA at bilateral “Zusanli” (ST36). Stimulation parameters were: 2 mA, 2 Hz/15 Hz, 20 min/session, once daily, 6 sessions/week for 2 consecutive weeks. Body weight was recorded weekly. After the intervention, 24 h food intake was measured. Liver wet weight, inguinal white adipose tissue (iWAT) wet weight, and epididymal white adipose tissue (eWAT) wet weight were recorded. Gastric emptying rate was assessed using the phenol red meal test. Serum cholecystokinin (CCK) concentration was measured by ELISA. Protein expressions of protein gene product 9.5 (PGP9.5) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the gastric antrum were evaluated by Western blot. The co-expression density index of PGP9.5 and CGRP in the gastric antrum and c-Fos expression levels in the nodose ganglion (NG) were detected by immunofluorescence staining. In part 2, another 32 SPF male C57BL/6J mice were fed an HFD for 4 weeks and then randomly divided into 4 groups ($n=8$ each): sham operation group, sham + EA group, vagotomy (resection of the gastric vagal branches) group, and vagotomy + EA group. The acupoint and intervention parameters were the same as above. Body weight, 24 h food intake, liver wet weight, iWAT wet weight, eWAT wet weight, the co-expression of PGP9.5 and CGRP in the gastric antrum, and the number of c-Fos positive neurons in the NG were measured. **Results** Compared to the ND group, 4-week HFD feeding increased body weight, liver wet weight, and adipose tissue (iWAT and eWAT) wet weights, while decreased gastric emptying rate and serum CCK levels ($P<0.05$). The relative protein expressions of both PGP9.5 and CGRP in the gastric antrum were down-regulated ($P<0.05$). Meanwhile, the co-expression density index of PGP9.5 and CGRP in the gastric antrum was reduced ($P<0.05$). The number of c-Fos positive neurons in the NG decreased in HFD-fed mice ($P<0.05$). Compared to the HFD group, EA treatment reduced body weight, 24 h food intake, liver wet weight, and adipose tissue (iWAT and eWAT) wet weights ($P<0.05$). EA also increased gastric emptying rate and serum CCK levels ($P<0.05$). Moreover, EA up-regulated the relative protein expressions of PGP9.5 and CGRP as well as their co-expression density index in the gastric antrum ($P<0.05$). Finally, EA increased the number of c-Fos positive neurons in the NG ($P<0.05$). In the vagotomy experiment, compared with the sham operation group, the sham + EA group showed a significant decrease in body weight, food intake, liver wet weight, adipose tissue wet weight ($P<0.05$). After gastric branch vagotomy, however, the regulatory effects of EA on body weight, food intake, liver wet weight, and other indicators were weakened. Similarly, after surgery EA did not exert a significant modulatory effect on the co-expression level of PGP9.5 and CGRP in the gastric antrum or on the expression of c-Fos-positive neurons in the NG. **Conclusion** Short-term HFD leads to desensitization of gastric vagal afferent signaling, manifested as impairment of local gastric vagal sensory nerves and a decrease in the number of activated neurons in the NG. EA can suppress food intake by repairing gastric vagal afferent signaling.

【KEYWORDS】 Electroacupuncture; High-fat diet; Food intake; Gastric vagal afferent; Zusanli (ST36)

能量摄入与消耗失衡可导致多种能量代谢性疾病,其中短期高脂饮食在能量摄入环节中扮演着关键角色^[1-2],高脂饮食暴露可使摄食行为模式发生异常改变,是机体能量代谢失衡的重要病因之一。研究^[3]表明短期高脂饮食(15 d)即可明显降低机体迷走神经传入对饱感信号的敏感性,从而导致食物摄入量和体质量增加;胃肠迷走神经传入功能障碍,不仅可增加进餐次数,还会加剧高脂饮食造成的体质量增加,二者形成恶性循环,引发机体能量代谢功能障碍,提示胃肠道迷走神经是能量摄入信

号的直接调节者。

迷走神经通过感知胃肠内的化学信号如胆囊收缩素(CCK)、瘦素等,以及机械信号(胃运动),调控能量摄入的启动和终止。慢性迷走神经刺激可减少不同物种动物的食物摄入量,并减轻体质量,提示完整的迷走神经不仅是保障机体能量摄入环节功能正常的关键,还可作为干预靶点,治疗能量代谢性疾病。目前已有多种在体迷走神经电刺激仪器设备在开发或应用中^[4-5]。然而,外科手术创伤、植入电极的价格高昂、生物相容性、使用寿命和

闭环控制等问题极大地限制了它的推广^[6]。电针作为自主神经调控手段,其减肥临床疗效获得随机对照研究证实^[7],足三里是最常用的核心穴位之一^[8]。但是,对于电针足三里抑制摄食作用的迷走神经机制,尚有待进一步研究。

基于此,本研究以短期高脂饮食暴露小鼠为研究对象,以摄食量、血清CCK、胃排空率、胃窦蛋白基因产物9.5(PGP9.5)与降钙素基因相关肽(CGRP)蛋白表达(标记胃窦神经元)、神经节内细胞癌基因Fos蛋白(c-Fos)表达为检测指标,观察研究对象迷走传入的化学信号、机械信号及迷走传入感觉环节的变化,最后采用迷走神经胃支切除术加以验证,探索电针足三里调节能量代谢的神经机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

4周龄SPF级雄性C57BL/6J小鼠,体质量12~17 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,饲养于南京中医药大学实验动物中心,适应性喂养1周。本实验方案经南京中医药大学动物伦理委员会批准(动物伦理号:202205A037)。小鼠被随机分为正常组和高脂饮食组。正常组喂养SPF级全价小鼠饲料,高脂饮食组喂养高脂饲料,持续4周。高脂饲料配方^[9]:全价SPF级小鼠饲料60%,猪油12%,蔗糖5%,奶粉5%,花生5%,鸡蛋10%,芝麻油1%,盐2%,由苏州双狮实验动物科技有限公司按本研究团队提供的配方加工。实验第一部分取14只正常饮食小鼠为正常组,取28只高脂饮食组小鼠随机分为高脂组和电针组,每组14只;实验第二部分,另外选取32只高脂饮食组小鼠,随机分为假手术组、假手术+电针组、手术组及手术+电针组,每组8只。

1.2 主要试剂与仪器

CCK ELISA试剂盒(南京建成),酚红(天津化学试剂研究所),氨基甲酸乙酯(德国,Sigma-Aldrich),异氟烷(深圳瑞沃德),多聚甲醛(北京Biosharp),RIPA裂解液(上海碧云天),BCA蛋白浓度测定试剂盒(美国Thermo Fisher), β -actin抗体、PGP9.5抗体、CGRP抗体、抗兔IgG二抗、抗鼠IgG二抗(美国Invitrogen),DAPI(上海Absin),Alexa Fluor 594标记二抗、Alexa Fluor 488标记二抗、Alexa Fluor 647标记二抗(美国Abcam),c-Fos抗体(德国Synaptic Systems)。一次性无菌针灸针(0.18 mm × 25 mm,苏州医疗用品厂),韩氏电针仪(HANS-

200A,南京济生),电子天平(德国Sartorius),小动物麻醉机(深圳瑞沃德),台式冷冻离心机(德国Eppendorf),多功能酶标仪(美国BioTek),电泳仪及转印系统(美国Bio-Rad),化学发光成像仪(上海欧翔),激光共聚焦显微镜(德国Leica)。

1.3 针刺方法

电针组、假手术+电针组和手术+电针组小鼠在浅麻醉状态下,选择“足三里”进行电针干预,其余组采用相同方式麻醉,不电针。“足三里”定位参照《实验动物常用穴位名称与定位 第3部分:小鼠》^[10]:位于膝关节后外侧,在腓骨小头下约2 mm处。操作流程:将两根毫针(0.18 mm × 0.25 mm)用塑料胶布捆绑,针柄末端露出5~10 mm,并向相反方向掰成“Y”型,使两针身相隔约1 mm,保持绝缘状态。用异氟烷麻醉小鼠后(诱导麻醉通气量3%,维持麻醉通气量0.5%~1%),进行针刺。连接韩氏电针仪,疏密波,频率2 Hz/15 Hz,电流强度2 mA。每次刺激20 min,每日1次。每周连续干预6 d,休息1 d,共干预2周。实验过程中使用加热垫维持小鼠体温并密切观察其精神状况。电针干预期间,除正常组外的其他小鼠都使用高脂饲料喂养。

1.4 胃迷走神经切除术

手术组和手术+电针组小鼠术前24 h禁食不禁水,称重,采用异氟烷气体麻醉(1%~2%)。常规碘伏消毒,在小鼠剑突偏左侧下0.5 cm处行大约1 cm切口,在距贲门5 mm处的食管前后壁用玻璃分针分离出迷走神经胃支,充分暴露迷走神经胃支后,用6-0丝线结扎神经并切断,随后缝合创口并用碘伏消毒^[11]。手术结束后,小鼠被放回单独隔离笼,并将未苏醒的小鼠置于加热垫上帮助其恢复。术后恢复正常活动后,对手术+电针组小鼠进行电针干预。假手术组和假手术+电针组小鼠仅分离迷走神经胃支,不切断。

1.5 观察指标与检测方法

体质量及24 h摄食量检测:每周同一时间点使用电子秤记录各组小鼠的体质量。电针干预结束后,将小鼠禁食18 h,每只单笼饲养,给予充足的高脂饲料和水,并记录其24 h的食物摄入量。基于摄食量计算电针干预后的24 h摄食量变化率(%): $[(\text{手术+电针组})-\text{手术组}]/\text{手术组} \times 100\%$ 或 $[(\text{假手术+电针组})-\text{假手术组}]/\text{假手术组} \times 100\%$ 。

ELISA法检测血清CCK浓度:小鼠腹腔注射20%氨基甲酸乙酯麻醉剂(0.005 mL/g)麻醉后,眼眶取血1 mL,在4℃、3 000 r/min条件下离心25 min

(离心半径 8.5 cm),用移液枪吸取上清放置 -80 ℃ 备用。将 CCK ELISA 试剂盒中的所有试剂均提前 0.5 h 放置于室温,准备特定浓度的标准品,加 50 μL 于标准品孔中;将 50 μL 的血清样本加至样品孔中,空白孔仅加显色剂和终止液,后置于 37 ℃ 培养箱中孵育 30 min;洗净后每孔加入酶标试剂,培养箱 37 ℃ 温育 0.5 h,重复洗涤 5 次;加入亲和-HRP 工作液 50 μL 到空白孔、标准品孔、样品孔中,混匀后,置于 37 ℃ 培养箱 30 min,洗涤 5 次后依次加入显色液 A、B,并混匀,避光,于 37 ℃ 温育 10 min,随后加入终止液。于酶标仪上选择 450 nm 波长测量吸光度(OD)值,并根据标准品浓度和其 OD 值,计算血清 CCK 浓度。

酚红餐检测小鼠胃排空率:参照酚红灌胃法^[12],将禁食 15 h(自由饮水)后的小鼠灌胃 0.6 mL 含 0.05% 酚红的酚红餐。灌胃 30 min 后,采用颈椎脱臼法处死小鼠,正常组、高脂组、电针组各 6 只。随后开腹,迅速结扎贲门和幽门,取出完整的胃。沿胃大弯剪开胃腔,用预冷 0.9% 氯化钠溶液轻柔冲洗内容物。将冲洗液连同胃内容物收集于 0.1 mol/L NaOH 溶液中,充分混匀后,静置 1 h。取 5 mL 上清液加入 0.5 mL 20% 三氯乙酸溶液混匀,4 ℃ 离心 20 min。取 1 mL 上清液加入 4 mL 的 0.5 mol/L NaOH 溶液中并混匀,37 ℃ 孵育 10 min,用酶标仪于 560 nm 波长处测定 OD 值,记为实测 OD 值。另取 6 只正常小鼠灌胃酚红餐后立刻处死,操作步骤同上,测得的 OD 值记为标准 OD 值。胃排空率(%) = $[1 - (\text{实测 OD 值} \div \text{标准 OD 值})] \times 100\%$ 。

取材方法:取血后,颈椎脱臼处死小鼠,将小鼠浸泡于 75% 乙醇数秒后置于冰袋上,用解剖剪快速剪开腹部,取出胃组织,分离胃窦,随后依旧在冰袋上剥离脂肪组织、肝脏、结状神经节组织。

脂肪组织湿重称量:用解剖镊分离出附睾脂肪组织、腹股沟脂肪组织,置于 PBS 缓冲液中漂洗,并用定性滤纸吸干脂肪组织表面液体,置于电子天平上称取组织湿重,并记录。

肝脏组织湿重称量:打开小鼠腹腔后,剪断肝脏连接的血管等,用钝头解剖镊分离出完整的小鼠肝脏,于 PBS 缓冲液中清洗,并用定性滤纸吸干组织表面液体,置于电子天平上称取组织湿重,并记录。

Western blot 法检测胃窦组织 PGP9.5、CGRP 蛋白表达:取胃窦组织,按质量体积比 100 mg:1 mL 加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液,使用球磨仪匀浆。4 ℃、14 000 r/min 离心 10 min(离心半径

8.5 cm),取上清。采用 BCA 法测定蛋白浓度。取等量总蛋白(30 μg)与上样缓冲液混合,100 ℃ 煮沸 5 min 变性。经 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白(恒压 150 V,50 min)。电转法(恒流 300 mA,90 min)将蛋白转移至 PVDF 膜。用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 室温封闭 1 h。加入稀释的一抗(β-actin 1:5 000,PGP9.5 1:500,CGRP 1:1 000),4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗膜 3 次(10 min/次)。加入相应的 HRP 标记二抗(1:5 000),室温孵育 1 h。TBST 洗膜 3 次(10 min/次)。使用 ECL 化学发光试剂显影,化学发光成像仪采集图像。Image J 软件分析目标条带灰度值,以目的蛋白条带与内参 β-actin 蛋白条带灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

结状神经节组织采集:先用剪刀沿颈正中中线剪开,在体视镜下,采用钝性分离的方法分离颈总动脉及其伴行迷走神经纤维,用玻璃分针沿神经纤维向上暴露结状神经节并剥离,将神经纤维剪去并剥除多余包裹组织,然后置于滤纸上收集分离干净的结状神经节。

免疫荧光染色:取材后将小鼠的胃窦组织、结状神经节组织于 4% 多聚甲醛固定,经 30% 蔗糖溶液脱水沉底后,OCT 包埋,液氮速冻。-20 ℃ 恒温切片剂分别制备 30 μm、20 μm 厚冰冻切片。切片后于通风橱中室温烘干。室温下用 PBS 溶液进行洗片,后经 0.3% Triton X-100 透化 15 min,SeaBLOCK™ 阻断缓冲液室温封闭 1.5 h。加入一抗后 4 ℃ 孵育过夜。TBST 漂洗 3 次(5 min/次)。随后,加入特异性的荧光二抗(1:200),37 ℃ 避光孵育 1.5 h。对于胃窦染色,PGP9.5(1:200)对应的二抗为抗兔 Alexa Fluor 647/594,一抗 CGRP(1:200)对应的二抗为抗兔 Alexa Fluor 594/488;对于结状神经节染色,一抗为 c-Fos(1:5 000),对应二抗为抗兔 Alexa Fluor 594。二抗孵育完成后,TBST 漂洗 3 次(5 min/次)。滴加含 DAPI 的防荧光淬灭封片剂封片。激光共聚焦显微镜采集图像,并采用 Image J 软件进行分析。每只小鼠选取 3 个视野进行 PGP9.5 与 CGRP 阳性共表达的密度指数分析,PGP9.5 和 CGRP 共表达的平均密度指数 = 共表达阳性染色面积 ÷ 所在肌层面积,并统计结状神经节内 c-Fos 阳性神经元数量。

1.6 统计学分析

采用 SPSS26.0 软件进行统计分析。所有数据均先进行正态性检验和方差齐性检验,数据符合正态分布,以均数 ± 标准误($\bar{x} \pm s_x$)表示。两组间比较采用独立样本 *t* 检验;3 组间比较采用单因素方差分

析,方差齐时两两比较采用 Tukey 检验,若不符合正态分布或方差不齐,则采用 Kruskal-Wallis 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 电针改善小鼠摄食量和体质量

与正常饮食组比较,在高脂饮食第3周结束时,该组小鼠体质量显著增加,并持续至第4周 ($P < 0.05$)。电针干预第1周和第2周,与高脂组比较,电针组小鼠体质量降低 ($P < 0.05$);电针组 24 h 摄食

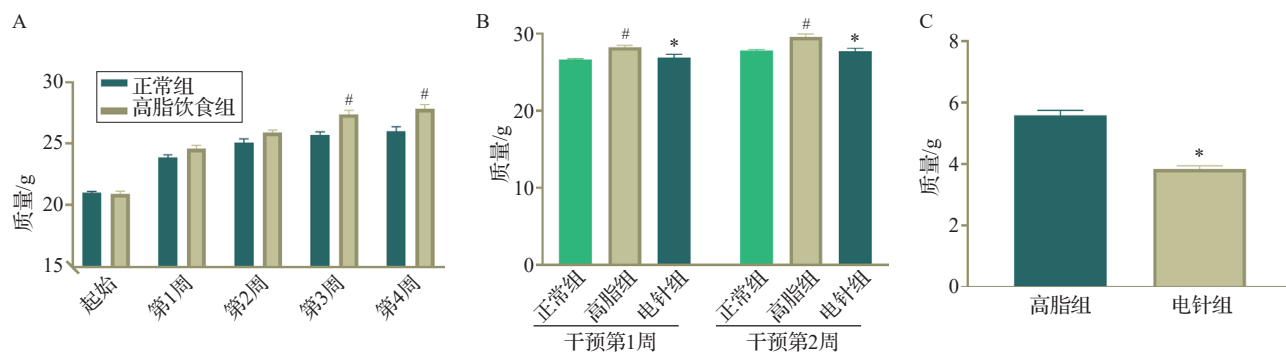
量显著降低 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 电针减轻小鼠的脏和脂肪组织湿重

与正常组比较,高脂组小鼠肝脏湿重、腹腔白色脂肪组织和附睾白色脂肪组织湿重显著增加 ($P < 0.05$),而电针干预则能显著减轻肝脏和脂肪组织的湿重 ($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 电针对高脂饮食小鼠饱腹感的调节

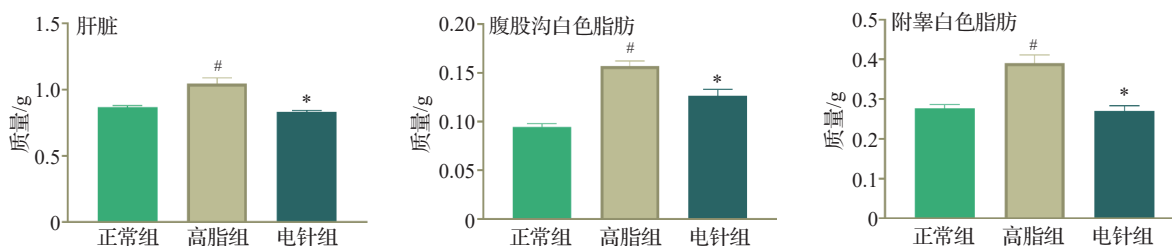
高脂组小鼠胃排空率和血清 CCK 浓度均较正常组明显降低 ($P < 0.05$),而电针干预能提高胃排空率和血清 CCK 浓度 ($P < 0.05$)。见图 3。



注:A为正常饮食组和高脂饮食组小鼠体质量变化,B为电针干预期间各组小鼠体质量变化,C为电针干预后小鼠24 h摄食量。与同时点正常组比较,[#] $P < 0.05$;与同时点高脂组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

图1 各组小鼠体质量及摄食量比较 ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, 8只鼠/组)

Fig. 1 Comparison of body weight and food intake of mice in each group ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, 8 mice/group)



注:与正常组比较,[#] $P < 0.05$;与高脂组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

图2 各组小鼠肝脏和脂肪组织湿重比较 ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, 8只鼠/组)

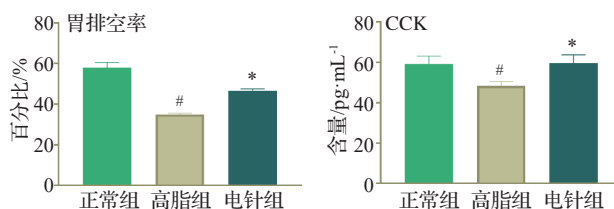
Fig. 2 Comparison of wet weight of liver and white adipose tissues of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, 8 mice/group)

2.4 电针增强胃窦感觉信号

与正常组比较,高脂组小鼠胃窦组织的 PGP9.5 及 CGRP 蛋白相对表达量显著下降 ($P < 0.05$),电针则能明显增高 PGP9.5 及 CGRP 蛋白的相对表达量 ($P < 0.05$)。见图 4。免疫荧光染色结果显示,高脂组胃窦肌层中 PGP9.5 和 CGRP 共表达密度指数较正常组下调 ($P < 0.05$),而电针干预后则显著上调 ($P < 0.05$)。见图 5。

2.5 电针激活小鼠结状神经节内 c-Fos 阳性神经元

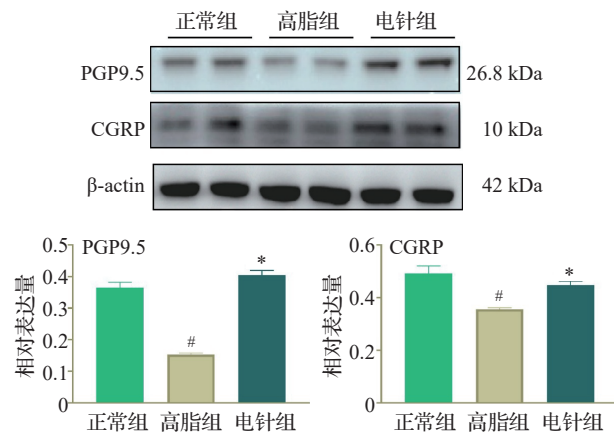
与正常组比较,高脂组的 c-Fos 阳性神经元数量显著降低 ($P < 0.05$),而电针组则较高脂组显著升



注:CCK为胆囊收缩素。与正常组比较,[#] $P < 0.05$;与高脂组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

图3 各组小鼠胃排空率和血清 CCK 浓度比较 ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, 6只鼠/组)

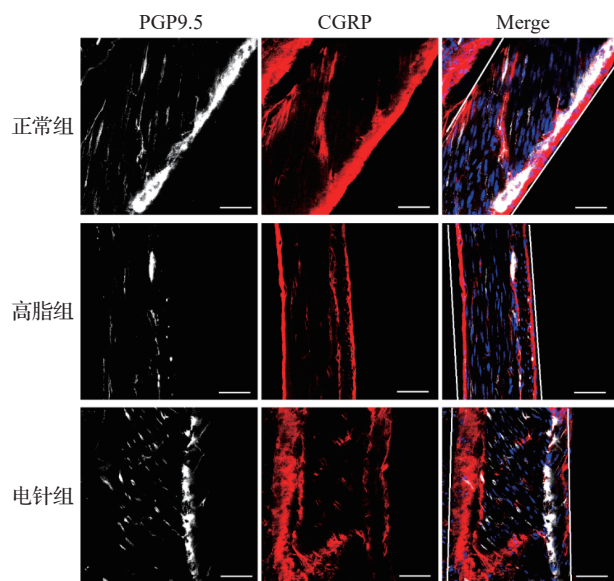
Fig. 3 Comparison of gastric emptying rate and serum CCK content of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, 6 mice/group)



注:PGP9.5为蛋白基因产物9.5,CGRP为降钙素基因相关肽。与正常组比较,# $P<0.05$;与高脂组比较,* $P<0.05$ 。

图4 各组小鼠胃窦组织PGP9.5和CGRP蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$,4只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of the expression levels of PGP9.5 and CGRP proteins in antral tissue of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$, 4 mice/group)



注:PGP9.5为蛋白基因产物9.5,CGRP为降钙素基因相关肽。PGP9.5阳性表达为灰白色,CGRP阳性表达为红色,白色线条范围内为主要观察的胃肌层区域。标尺=50 μm。与正常组比较,# $P<0.05$;与高脂组比较,* $P<0.05$ 。

图5 各组小鼠胃窦组织PGP9.5和CGRP共表达密度指数比较(免疫荧光染色, $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$,4只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of the co-expression density index of PGP9.5 and CGRP in antral tissue of mice in the 3 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$, 4 mice/group)

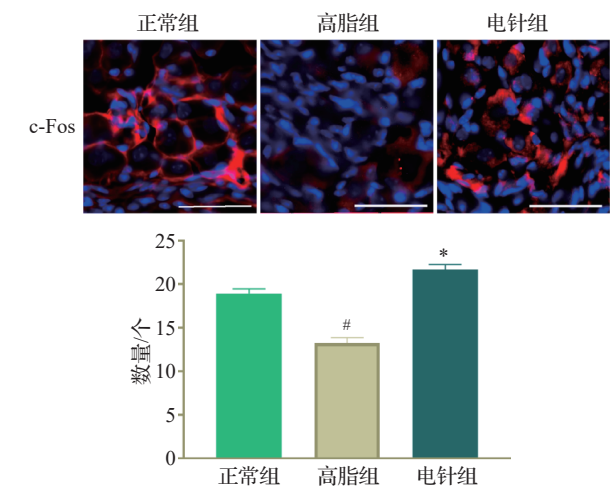
高($P<0.05$)。见图6。

2.6 胃迷走神经切除阻断电针降低小鼠体质量、摄食和组织湿重的作用

为阐明胃迷走神经传入的作用,实验第二部分聚焦于接受胃迷走神经分支切除术的小鼠。在电针干预的第1周,与假手术组比较,假手术+电针组小鼠的体质量显著下调($P<0.05$);而与手术组比较,手术+电针组小鼠体质量差异无统计学意义。在电针干预的第2周,与假手术组比较,假手术+电针组小鼠的体质量显著下调($P<0.05$);与手术组比较,手术+电针组小鼠体质量也明显下调($P<0.05$)。24 h摄食量结果显示,分别与假手术组和手术组比较,假手术+电针组和手术+电针组小鼠摄食量均显著下调($P<0.05$)。进一步分析手术对电针抑制摄食效率的影响,结果显示与假手术+电针组相比,手术+电针组的摄食量变化率显著降低($P<0.05$)。见图7。与假手术组比较,假手术+电针组小鼠的肝脏湿重、腹股沟白色脂肪组织和附睾白色脂肪组织湿重均显著降低($P<0.05$);而与手术组比较,手术+电针组小鼠腹股沟白色脂肪组织湿重降低($P<0.05$),但其肝脏湿重、附睾白色脂肪组织湿重差异均无统计学意义。见图8。

2.7 胃迷走神经切除阻断电针增强胃窦感觉神经信号的作用

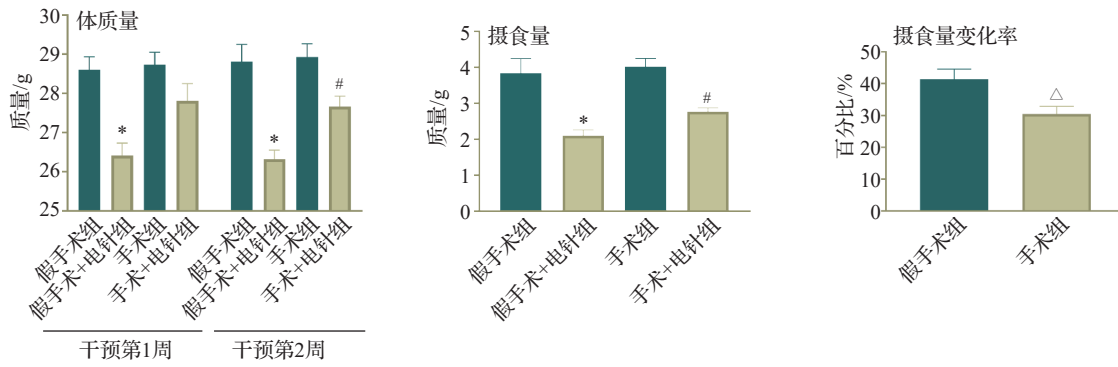
与假手术组比较,假手术+电针组小鼠胃窦区



注:c-Fos为细胞癌基因Fos蛋白。c-Fos阳性表达为红色,标尺=50 μm。与正常组比较,# $P<0.05$;与高脂组比较,* $P<0.05$ 。

图6 各组小鼠结状神经节中c-Fos阳性神经元数量比较(免疫荧光染色, $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$,4只鼠/组)

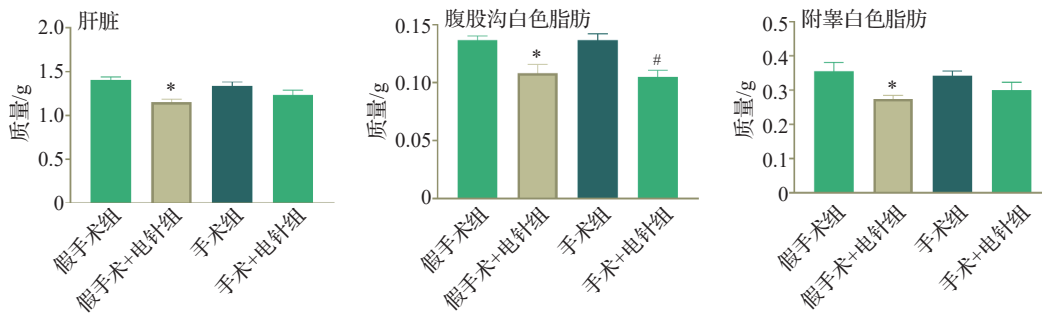
Fig. 6 Comparison of the number of c-Fos positive neurons in the nodose ganglion of mice in the 3 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$, 4 mice/group)



注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与手术组比较,# $P<0.05$;与假手术+电针组比较, $\Delta P<0.05$ 。

图7 胃迷走神经切除术后各组小鼠体质量及摄食量比较($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$, 8只鼠/组)

Fig. 7 Comparison of body weight and food intake after gastric vagus nerve resection of mice in each group ($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$, 8 mice/group)



注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与手术组比较,# $P<0.05$ 。

图8 胃迷走神经切除术后各组小鼠组织湿重比较($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$, 6只鼠/组)

Fig. 8 Comparison of wet weight of tissues after gastric vagus nerve resection of mice in the 4 groups ($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$, 6 mice/group)

域 PGP9.5 与 CGRP 的共表达密度指数上调 ($P<0.05$); 手术+电针组与手术组的差异无统计学意义。见图9。

2.8 胃迷走神经切除阻断电针激活结状神经节神经元的作用

与假手术组比较,假手术+电针组结状神经节的 c-Fos 阳性神经元数量显著升高 ($P<0.05$); 与手术组比较,手术+电针组 c-Fos 阳性神经元数量的差异无统计学意义。见图10。

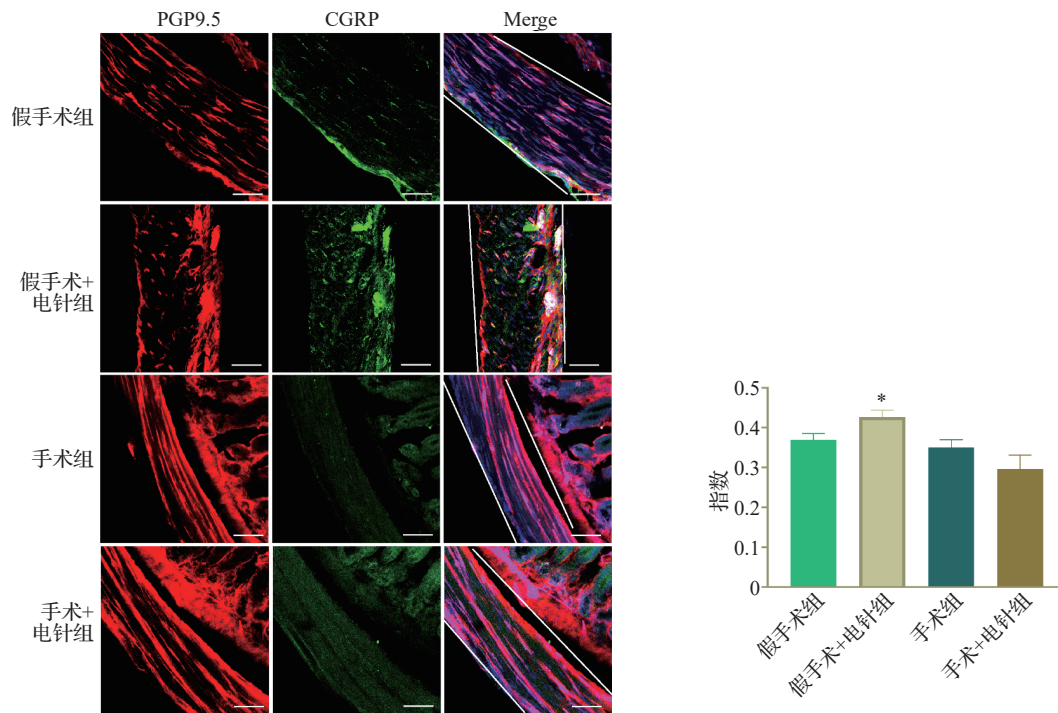
3 讨论

《素问》载“饮食有节……而尽终其天年,度百岁乃去”,即强调饮食节制及规律的重要性,而“饮食不节,以生百病”提示饮食结构偏嗜或者饮食摄入量异常均能导致疾病。现代研究证明,高能量饮食会诱导肥胖和糖尿病等代谢性疾病的发生^[13-14],探究摄食异常的潜在机制及有效干预措施至关重要。

足三里是临床抑制摄食的重要穴位。基础研

究表明,针刺“足三里”能显著抑制高脂状态的能量摄入,并调节机体胃肠功能^[15-16]。与此一致,本研究在短期高脂饮食暴露的小鼠中观察到,“足三里”的电针干预具有减重及抑制摄食的功效。

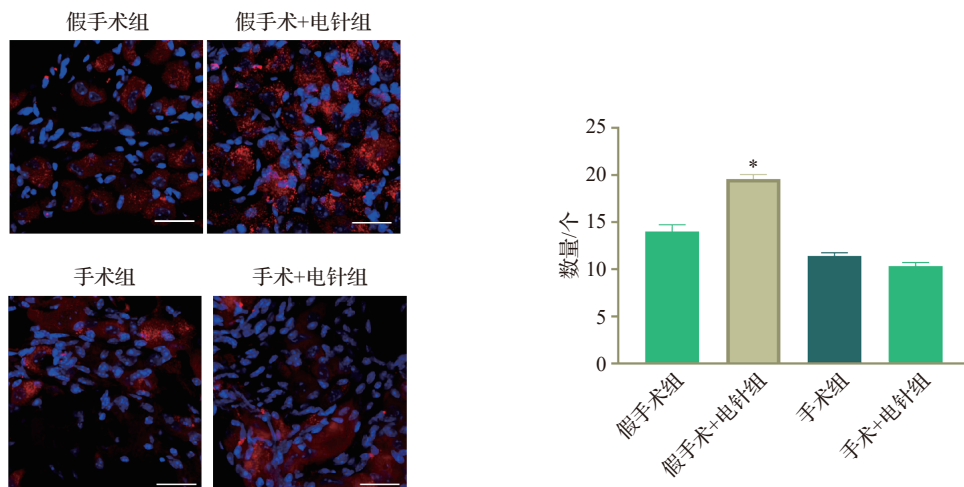
摄食的神经调控过程复杂。大脑不仅可以通过循环系统直接感知代谢相关分子水平,还能够通过外周传入神经信号感知机体能量状态,从而调控摄食和代谢^[17]。迷走神经作为连接大脑和外周器官的重要桥梁,是营养感知的关键神经通路^[18]。例如,肠内分泌细胞分泌 CCK 以感知肠道营养物质,并激活感觉神经末梢上的 CCK-A 受体,通过迷走传入纤维进而激活孤束核(NTS)神经元以促进饱腹感^[19]。迷走神经感觉神经元胞体神经节的外周突位于胃肠道中,检测由食物体积或营养素诱发的机械或化学刺激,信号经由迷走感觉纤维传递终止于脑干,于此过程中产生的饱感信号利于摄食的终止。但现有研究提示,高脂饮食暴露能钝化脂质触发的 CCK 饱足信号^[20]。同时,高脂饮食引起胃迷走神经传入机械敏感性的昼夜节律变化完全消失^[21],提示



注:PGP9.5为蛋白基因产物9.5,CGRP为降钙素基因相关肽。PGP9.5阳性表达为红色,CGRP阳性表达为绿色,白色线条范围内为主要观察的胃肌层区域。标尺=50 μm。与假手术组比较,*P<0.05。

图9 胃迷走神经切除术后各组小鼠胃窦组织PGP9.5和CGRP共表达密度指数比较 (免疫荧光染色, $\bar{x} \pm s_x$, 4只鼠/组)

Fig. 9 Comparison of the co-expression density index of PGP9.5 and CGRP in antral tissue after gastric vagus nerve resection of mice in the 4 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x} \pm s_x$, 4 mice/group)



注:c-Fos为细胞癌基因Fos蛋白。c-Fos阳性表达为红色,标尺=50 μm。与假手术组比较,*P<0.05。

图10 胃迷走神经切除术后各组小鼠结状神经节中c-Fos阳性神经元数量比较 (免疫荧光染色, $\bar{x} \pm s_x$, 4只鼠/组)

Fig. 10 Comparison of the number of c-Fos positive neurons in the nodose ganglion after gastric vagus nerve resection of mice in the 4 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x} \pm s_x$, 4 mice/group)

高脂饮食诱导迷走传入化学和机械信号钝化,可能加剧摄食异常。有趣的是,本研究观察到高脂饮食导致CCK浓度及胃排空率的降低,表明高脂饮食引起胃中的食物滞留时间延长,但并没有产生足够的

饱腹感以抑制摄食,提示高脂饮食导致胃感觉传入信号受损^[22]。

支配胃的迷走神经传入末梢在肌间神经丛形成的神经节内板状末梢^[23],其对迷走神经张力受体

敏感,能检测机械信号。而较少部分的迷走传入纤维止于胃黏膜附近,响应于抚摸、pH值和激素的变化^[24]。PGP9.5被广泛用作“泛神经元”的标志物^[25],CGRP在胃肠神经元受刺激时被分泌,是调节胃动力的关键神经肽^[26],因此我们使用CGRP与PGP9.5共标记来检测相关的胃窦胃肌间神经丛神经元的表达变化,结果表明高脂饮食喂养抑制其共表达。c-Fos是Fos转录因子家族的一员,是经典的神经元活性标记,所以在本研究中,c-Fos同样被用来检测结状神经节(又名迷走神经下神经节)内激活的神经元数^[27]。结果表明,高脂饮食抑制了神经节神经元的激活。综上提示,高脂状态能使胃迷走传入信号受损,与摄食异常有关。

这种由饮食不节引发的胃感觉信号传递异常,导致机体消耗更多食物来满足能量代谢需求。有研究团队^[28]设计出靶标“胃机械感受器”的生物电子刺激器,能有效通过调节迷走神经产生饱腹感以抑制摄食。因此,调控胃迷走传入信号或将成为代谢障碍疾病治疗的关键靶标。

现有研究提示,迷走神经是针刺“足三里”的关键起效靶点^[29]。电针“足三里”主要激活腓总神经传入纤维,其信号经脊髓背角(L4和L5节段)上传至延髓NTS和迷走神经背核进行整合^[30]。尤其在高脂饮食状态,针刺“足三里”能激活NTS神经元,减少摄食和体质量^[31]。本研究观察到,电针“足三里”增强胃窦感觉神经标记物及结状神经节内c-Fos表达,提示改善因高脂饮食受损的胃感觉神经信号可能与电针“足三里”减少摄食有关。为了进一步验证迷走神经的作用,本研究继续选用高脂饮食喂养的胃迷走神经切除小鼠。与预期一致,胃迷走神经切除之后,电针减重效应延迟和抑制摄食的效率下降,电针对其胃窦PGP9.5和CGRP共表达密度指数的调节作用也被阻断,同时,电针对其结状神经节内c-Fos的表达也没有显著影响。以上在胃迷走神经切除小鼠内观察到的电针抑制摄食、体质量及其对胃感觉信号调控功能的减弱,均提示修复胃迷走神经信号是电针改善高脂饮食状态小鼠摄食异常的重要机制。

虽然本研究通过结合胃迷走神经切除小鼠和感觉神经标记物,验证了电针对胃内迷走感觉信号的调控作用,但仍无法完全排除胃内肠神经系统的潜在干扰。未来研究计划于神经节内注射神经示踪剂,以进一步特异性标记胃迷走感觉神经,从而更直接地揭示电针的作用机制。此外,在本研究中

观察到,胃迷走神经切除后,出现减重效应延迟和抑制摄食的效率下降的现象,提示电针减重效应和抑制摄食功效并未被完全抑制,说明胃迷走神经是电针“足三里”疗效发挥的主要但非唯一的通路,其他机制在胃迷走神经缺失时能代偿其部分功能,未来也将进一步探索这部分内容。

综上,本研究揭示,电针“足三里”能通过增强胃迷走神经传入信号抑制高脂饮食小鼠摄食,不仅为阐释电针调节能量摄入的神经机制提供了新证据,也为肥胖的预防与治疗提供了科学的选穴参考。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。作者徐斌为本刊编委,但未参与本文的审理。

参考文献

- [1] CHEN Y H, MICHALAK M, AGELLON L B. Importance of nutrients and nutrient metabolism on human health[J]. *Yale J Biol Med*, 2018, 91(2): 95-103.
- [2] TEO P S, VAN DAM R M, WHITTON C, et al. Consumption of foods with higher energy intake rates is associated with greater energy intake, adiposity, and cardiovascular risk factors in adults[J]. *J Nutr*, 2021, 151(2): 370-378.
- [3] NEFTI W, CHAUMONTET C, FROMENTIN G, et al. A high-fat diet attenuates the central response to within-meal satiation signals and modifies the receptor expression of vagal afferents in mice[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009, 296(6): R1681-R1686.
- [4] DAI F, YIN J Y, CHEN J D Z. Effects and mechanisms of vagal nerve stimulation on body weight in diet-induced obese rats[J]. *Obes Surg*, 2020, 30(3): 948-956.
- [5] YIN J Y, JI F, GHARIBANI P, et al. Vagal nerve stimulation for glycemic control in a rodent model of type 2 diabetes[J]. *Obes Surg*, 2019, 29(9): 2869-2877.
- [6] 戴春喜. 世界植入式神经刺激器现状及发展趋势展望[J]. *生物技术世界*, 2015, 12(3): 53-54.
DAI C X. Present situation and development trend of implantable nerve stimulator in the world (in Chinese)[J]. *Biotech World*, 2015, 12(3): 53-54.
- [7] Gao Y, Wang Y, Zhou J, et al. Effectiveness of electroacupuncture for simple obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020: 2367610.
- [8] 金京, 史之焯, 黄前前, 等. 基于数据挖掘技术分析针灸治疗单纯性肥胖的选穴规律[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(6): 2472-2480.
Jin J, Shi Z X, Huang Q Q, et al. Acupuncture point selection rules for simple obesity based on data mining technology (in Chinese)[J]. *World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 24(6): 2472-2480.
- [9] 孙志, 张中成, 刘志诚. 营养性肥胖动物模型的实验研究[J]. *中国药理学通报*, 2002, 18(4): 466-467.

- SUN Z, ZHANG Z C, LIU Z C. Experimental study of diet-induced obesity animal model (in Chinese) [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2002, 18(4): 466-467.
- [10] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第3部分:小鼠[J]. 针刺研究, 2021, 46(05): 445-446.
- China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in laboratory animals. Part 3: mice (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2021, 46(5): 445-446.
- [11] SCHWARTZ G J, BERKOW G, MCHUGH P R, et al. Gastric branch vagotomy blocks nutrient and cholecystokinin-induced suppression of gastric emptying [J]. Am J Physiol, 1993, 264(3 Pt 2): R630-R637.
- [12] 吴雪芬, 陈小丽, 郑雪娜, 等. 不同刺激强度电针对糖尿病胃轻瘫大鼠胃肠运动功能及胃窦平滑肌Ras同源物基因组成员A/相关卷曲螺旋蛋白激酶信号表达的影响[J]. 针刺研究, 2018, 43(3): 169-174.
- WU X F, CHEN X L, ZHENG X N, et al. Effect of different stimulating strength of electroacupuncture on gastrointestinal motility and RhoA/ROCK signaling in gastric antral smooth muscle in diabetic gastroparesis rats (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2018, 43(3): 169-174.
- [13] NAGY C, EINWALLNER E. Study of in vivo glucose metabolism in high-fat diet-fed mice using oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin tolerance test (ITT) [J]. J Vis Exp, 2018(131): e56672.
- [14] JACOB T, SINDHU S, HASAN A, et al. Soybean oil-based HFD induces gut dysbiosis that leads to steatosis, hepatic inflammation and insulin resistance in mice [J]. Front Microbiol, 2024, 15: 1407258.
- [15] 宋燕娟, 陈瑞, 梁凤霞, 等. 电针对高脂饮食诱导的肥胖大鼠下丘脑沉默信息调节因子1、叉头状转录因子O1及阿黑皮素原的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(1): 27-32, 45.
- SONG Y J, CHEN R, LIANG F X, et al. Effect of electroacupuncture on silent information regulator 1, fork head transcription factor O1 and proopiomelanocortin in the hypothalamus of rats with obesity induced by high-fat diet (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2020, 45(1): 27-32, 45.
- [16] 余芝, 王亚玲, 宋鑫, 等. 电针足三里调节短期高脂饮食大鼠胃运动的迷走传入信号机制[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(11): 2698-2704.
- YU Z, WANG Y L, SONG X, et al. Mechanism of electroacupuncture at Zusanli regulating vagal afferent signal of gastric motility in rats fed with short-term high-fat diet (in Chinese) [J]. Journal Li-shizhen Traditional Chinese Medicine, 2024, 35(11): 2698-2704.
- [17] 占成. 摄食行为的神经调控[J]. 中国科学: 生命科学, 2021, 51(4): 438-449.
- ZHAN C. Neural regulation of feeding behaviors (in Chinese) [J]. Scientia Sinica (Vitae), 2021, 51(4): 438-449.
- [18] GAUTRON L, SAKATA I, UDIT S, et al. Genetic tracing of Nav1.8-expressing vagal afferents in the mouse [J]. J Comp Neurol, 2011, 519(15): 3085-3101.
- [19] NÄSSEL D R, WU S F. Cholecystokinin/sulfakinin peptide signaling: conserved roles at the intersection between feeding, mating and aggression [J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(3): 188.
- [20] DUCA F A, ZHONG L, COVASA M. Reduced CCK signaling in obese-prone rats fed a high fat diet [J]. Horm Behav, 2013, 64(5): 812-817.
- [21] KENTISH S J, VINCENT A D, KENNAWAY D J, et al. High-fat diet-induced obesity ablates gastric vagal afferent circadian rhythms [J]. J Neurosci, 2016, 36(11): 3199-3207.
- [22] CAMILLERI M, GRUPELL A B M. Appetite and obesity: a gastroenterologist's perspective [J]. Neurogastroenterol Motil, 2007, 19(5): 333-341.
- [23] BERTHOUD H R. Vagal and hormonal gut-brain communication: from satiation to satisfaction [J]. Neurogastroenterol Motil, 2008, 20 Suppl 1(1): 64-72.
- [24] BROOKES S J H, SPENCER N J, COSTA M, et al. Extrinsic primary afferent signalling in the gut [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10(5): 286-296.
- [25] MATSUMOTO K, SUENAGA M, MIZUTANI Y, et al. Role of transient receptor potential vanilloid subtype 2 in lower oesophageal sphincter in rat acid reflux oesophagitis [J]. J Pharmacol Sci, 2021, 146(3): 125-135.
- [26] PUJO J, DE PALMA G, LU J, et al. Gut microbiota modulates visceral sensitivity through calcitonin gene-related peptide (CGRP) production [J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2188874.
- [27] WANG F, SUN W J, CHANG L, et al. cFos-ANAB: a cFos-based web tool for exploring activated neurons and associated behaviors [J]. Neurosci Bull, 2021, 37(10): 1441-1453.
- [28] SRINIVASAN S S, ALSHAREEF A, HWANG A, et al. A vibrating ingestible bioelectronic stimulator modulates gastric stretch receptors for illusory satiety [J]. Sci Adv, 2023, 9(51): ead3003.
- [29] LIU S B, WANG Z F, SU Y S, et al. A neuroanatomical basis for electroacupuncture to drive the vagal-adrenal axis [J]. Nature, 2021, 598(7882): 641-645.
- [30] DONG S, ZHAO L J, LIU J, et al. Neuroanatomical organization of electroacupuncture in modulating gastric function in mice and humans [J]. Neuron, 2025, 113(19): 3243-3259.e11.
- [31] 肖文辉, 王亚玲, 徐天成, 等. 电针足三里穴调控回肠及孤束核GLP-1抑制高脂饮食小鼠摄食的研究[J]. 时珍国医国药, 2025, 36(15): 2974-2980.
- XIAO W H, WANG Y L, XU T C, et al. Electroacupuncture at Zusanli acupoint (ST 36) inhibits food intake in high-fat diet mice by modulating GLP-1 in the ileum and nucleus tractus solitarius (in Chinese) [J]. Journal of Li-shizhen Traditional Chinese Medicine, 2025, 36(15): 2974-2980.