

基于Piezo1离子通道探讨电针敏化“三阴交”改善大鼠原发性痛经的效应机制

魏艳蓉^{1,2}, 资 艳¹, 彭玉婷¹, 张 游¹, 周 劲¹, 唐旂雯¹, 薛 晓³, 岳增辉¹

(¹湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 长沙 410208; ²湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007; ³南华大学附属第一医院中医科, 湖南衡阳 421001)

【摘要】 目的:探讨电针敏化“三阴交”改善原发性痛经(PDM)的效应机制,重点分析压电蛋白1(Piezo1)在电针效应中的作用。**方法:**60只雌性大鼠随机分为空白组(10只)和模型制备组(50只),采用 von Frey 电子测痛仪检测左侧“三阴交”穴区机械痛阈值,依据机械痛阈值变化率从模型制备组中筛选出模型高敏化组、模型低敏化组、电针高敏化组和电针低敏化组,每组10只。采用苯甲酸雌二醇和缩宫素联合注射制备PDM大鼠模型。两电针组予“三阴交”电针干预,50 Hz,密波,20 min/d,连续5 d。记录扭体反应评价腹痛程度;激光散斑成像观察子宫血流量;HE染色观察大鼠子宫组织病理形态;甲苯胺蓝染色法观察“三阴交”穴区肥大细胞脱颗粒率;透射电镜观察子宫组织细胞超微结构;ELISA法检测血清及子宫匀浆中前列腺素E₂(PGE₂)、前列腺素F_{2α}(PGF_{2α})、血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α)含量;Western blot法检测“三阴交”穴区Piezo1、降钙素基因相关肽(CGRP)、类胰蛋白酶(Tryptase)和子宫Piezo1蛋白表达;免疫荧光法检测“三阴交”穴区CGRP、Tryptase表达;RT-qPCR法检测子宫Piezo1和环氧化酶-2(COX-2)mRNA表达。**结果:**与空白组相比,模型高敏化组和模型低敏化组扭体次数、扭体评分增加($P<0.01$),出现扭体潜伏期($P<0.01$),子宫血流灌注量降低($P<0.01$),子宫病理评分升高($P<0.01$),肥大细胞脱颗粒率升高($P<0.01$),血清和子宫PGF_{2α}含量、血清TNF-α含量和PGF_{2α}/PGE₂比值显著升高($P<0.01$),血清和子宫PGE₂含量显著降低($P<0.01$),穴区CGRP、Tryptase阳性细胞及Piezo1、CGRP、Tryptase蛋白表达,子宫Piezo1、COX-2 mRNA表达及Piezo1蛋白表达升高($P<0.01$),子宫组织出现超微结构改变;电针高敏化组与模型高敏化组比较、电针低敏化组与模型低敏化组比较,两电针组扭体潜伏期延长,其余各指标均逆转($P<0.01$, $P<0.05$);与电针低敏化组比较,电针高敏化组改善上述指标作用更为明显($P<0.01$)。**结论:**电针不同敏化状态“三阴交”均能有效缓解PDM大鼠疼痛,且电针高敏化组效应更佳;其机制存在穴位敏化状态依赖性,可能是通过调控穴区Piezo1的表达,抑制肥大细胞脱颗粒与神经源性炎性反应,并下调子宫Piezo1/COX-2/PGs通路蛋白表达,抑制炎症因子释放,从而发挥镇痛作用。

【关键词】 电针;原发性痛经;穴位敏化;三阴交;压电蛋白1

Mechanism of electroacupuncture at sensitized “Sanyinjiao” (SP6) in alleviating primary dysmenorrhea in rats based on Piezo1 ion channel

WEI Yan-rong^{1,2}, ZI Yan¹, PENG Yu-ting¹, ZHANG You¹, ZHOU Jin¹, TANG Yi-wen¹, XUE Xiao³, YUE Zeng-hui¹
(¹College of Acu-moxibustion and Massage & Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; ²The First Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007; ³Department of Traditional Chinese Medicine, The First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the mechanism of electroacupuncture (EA) at sensitized “Sanyinjiao” (SP6) in improving primary dysmenorrhea (PDM), with a focus on the role of Piezo1 protein in EA effects. **Methods**

[DOI] 10.13702/j.1000-0607.20251011

引用格式:魏艳蓉,资艳,彭玉婷,等.基于Piezo1离子通道探讨电针敏化“三阴交”改善大鼠原发性痛经的效应机制[J].针刺研究,2026,51(6):698-709.

项目来源:国家自然科学基金项目(No.82405581);湖南省重点研发计划项目(No.2023SK2045);湖南省研究生科研创新项目(No.CX20240747)

通信作者:岳增辉, E-mail:624755064@qq.com

Sixty female rats were randomly divided into a blank group ($n=10$) and a model establishment group ($n=50$). Mechanical pain thresholds at the left SP6 acupoint were measured using a von Frey electronic algometer. According to the change rate of mechanical pain threshold, the model establishment group was further divided into model high-sensitization group, model low-sensitization group, EA high-sensitization group, and EA low-sensitization group ($n=10$ each). The PDM rat model was established by combined injection of estradiol benzoate and oxytocin. The two EA groups received EA at SP6 (50 Hz, dense wave, 20 min/d) for 5 consecutive days. Writhing responses were recorded to evaluate abdominal pain severity; uterine blood flow was observed by laser speckle imaging; uterine histopathology was examined by HE staining; mast cell degranulation rate at the SP6 region was detected by toluidine blue staining; ultrastructural changes of uterine tissue were observed by transmission electron microscopy; levels of prostaglandin E_2 (PGE_2), prostaglandin $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) in serum and uterine homogenate, and serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by ELISA; protein expressions of Piezo1, calcitonin gene-related peptide (CGRP), and Tryptase in the SP6 region, as well as Piezo1 in the uterus, were detected by Western blot; immunofluorescence was used to detect CGRP and Tryptase expressions at SP6; RT-qPCR was performed to measure mRNA expressions of Piezo1 and cyclooxygenase-2 (COX-2) in the uterus. **Results** Compared with the blank group, the model high-sensitization and model low-sensitization groups showed increased writhing times, writhing scores and writhing latencies ($P<0.01$), decreased uterine blood perfusion ($P<0.01$), elevated uterine pathological scores ($P<0.01$), and increased mast cell degranulation rate ($P<0.01$). Serum and uterine $PGF_2\alpha$ contents, serum TNF- α content and $PGF_2\alpha/PGE_2$ ratio were significantly increased ($P<0.01$), while serum and uterine PGE_2 contents were significantly decreased ($P<0.01$). Protein expressions of Piezo1, CGRP, Tryptase, and positive expressions of CGRP and Tryptase at the acupoint, mRNA and protein expressions of Piezo1, and COX-2 mRNA in the uterus were up-regulated ($P<0.01$), accompanied by ultrastructural damage in uterine tissue. Compared with the corresponding model groups, the writhing latencies were increased further, and the other indicators mentioned above were significantly reversed in the two EA groups ($P<0.01$, $P<0.05$). Moreover, the EA high-sensitization group exhibited more obvious improvements than the EA low-sensitization group ($P<0.01$). **Conclusion** EA at SP6 with different sensitization states effectively alleviates pain in PDM rats, with a better effect in the high-sensitization state. The mechanism is dependent on acupoint sensitization, which may involve regulating Piezo1 expression at the acupoint, inhibiting mast cell degranulation and neurogenic inflammation, and down-regulating the Piezo1/COX-2/PGs pathway in the uterus to reduce inflammatory factor release, thereby producing analgesic effects.

【KEYWORDS】 Electroacupuncture; Primary dysmenorrhea; Acupoint sensitization; Sanyinjiao (SP6); Piezo1

原发性痛经(PDM)是指在没有盆腔器质病变情况下的月经疼痛,以经期反复发作、痉挛、下腹疼痛为特征^[1]。学生PDM的总体患病率为66.1%,呈上升趋势^[2]。其发病机制主要与子宫内膜前列腺素(PGs)类激素变化有关^[3]。治疗方法有非甾体抗炎药(NSAIDs)、避孕药、运动等^[4],然而,长期使用NSAIDs可能引发胃肠道反应等不良反应^[5]。研究表明,电针作为中医传统外治法,可通过调控神经-内分泌、免疫炎症反应等调节PGs的表达^[6-7]、下调炎症因子^[8]等来缓解痛经。本团队文献研究和临床实践表明,治疗PDM使用频率最高的穴位配伍是三阴交、关元^[9],敏化穴位以三阴交较为多见^[10],且临床针刺^[11]和热敏灸^[12]三阴交单穴均能获得较好的镇痛作用。

“穴位敏化”是指神经源性牵涉反应诱发体表对应部位产生感觉异变,穴位从“沉寂”(生理状态)到“唤醒”(病理状态)的现象^[13],已成为针灸研究领

域的热点。敏化穴位的出现因人、因病而异^[14]。前期大样本临床研究表明,针刺敏化态穴位常可获得良效^[15]。压电蛋白1(Piezo1)是一类机械门控阳离子通道蛋白,在平滑肌中有重要的生理作用^[16]。以往研究表明,Piezo1在皮肤^[17]和子宫^[18]中均有表达,Piezo1参与子宫肌层平滑肌的收缩调控,其被激活后可增加子宫平滑肌收缩,促进环氧合酶-2(COX-2)表达和PGs的释放^[19]。然而,Piezo1通道是否参与PDM病理状态下三阴交的敏化过程,以及电针高敏化穴与低敏化穴的效应差异及其内在机制,目前尚不明确。基于此,本实验建立PDM大鼠模型,观察电针高敏化与低敏化“三阴交”对痛经大鼠的镇痛效应,并从Piezo1机械离子通道、肥大细胞脱颗粒、炎症因子及子宫微循环等多角度探讨其作用机制,旨在为“穴位敏化”理论提供现代科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 SPF 级成年雌性 SD 大鼠 60 只, 8 周龄, 体重 200~220 g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 生产许可证号: SCXK(湘)2021-0009, 在湖南中医药大学喂养, 饲养温度维持在 20~25℃, 湿度 50%~70%, 大鼠 3 只/笼分笼饲养, 饲以标准饲料, 自由饮水, 每周更换垫料、消毒笼具两次。实验过程严格遵守中华人民共和国科学技术部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》。方案通过湖南中医药大学实验动物福利伦理审查, 动物实验伦理批准号: HNUCM21-2311-08。

1.2 主要仪器和试剂

一次性无菌针灸针(0.30 mm×25 mm)、SDZ-Ⅲ型电针仪(苏州医疗用品厂), RFLSI ZW 激光散斑血流成像系统(深圳瑞沃德), von Frey 测痛仪(美国 IITC Life Science), 低温高速离心机(德国艾本德), 病理切片机(上海徕卡), 全景切片扫描仪(匈牙利 3DHISTECH), 荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo), 台式冷冻离心机(长沙湘仪), 显微摄像仪(日本 Olympus), 正置荧光显微镜(德国徕卡), 酶标仪(上海帝肯), 透射电子显微镜(日本 JEM), 正置光学显微镜(日本 Nikon), 化学发光成像系统(美国伯乐), Fiji 软件(美国 National Institutes of Health)。

苯甲酸雌二醇、缩宫素(美国 Selleck), 瑞氏染色液-LG(北京雷根), RIPA 裂解液(强)、ECL Plus 超敏发光液、降钙素基因相关肽(CGRP)抗体、二抗(长沙艾碧维), 显影液(上海佳信), UltraSYBR Mixture、DM2000 Plus DNA Marker、mRNA 反转录试剂盒(北京康为世纪), 引物(北京擎科), 核酸染料(北京普利莱), 甲苯胺蓝染液(武汉赛维尔), Piezo1、类胰蛋白酶(Tryptase)、 β -actin 抗体(武汉三鹰), 重组 Anti-Mast Cell Tryptase 抗体(英国 abcam), CGRP Rabbit pAb(武汉爱博泰克), Trizol(美国 Thermo), 大鼠前列腺素 $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) ELISA 试剂盒、大鼠前列腺素 E_2 (PGE $_2$) ELISA 试剂盒、大

鼠肿瘤坏死因子(TNF)- α ELISA 试剂盒、苏木精-伊红染色液、TYR-570 荧光染料、DAPI 染液(长沙艾方)。

1.3 造模方法与分组

采用随机数字表法将 60 只动情间期雌性大鼠随机分为空白组 10 只、模型制备组 50 只。模型制备组大鼠均使用苯甲酸雌二醇和缩宫素联合制备 PDM 大鼠模型^[20]。具体操作: 选择处于动情间期的大鼠连续皮下注射苯甲酸雌二醇($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) 3 d, 第 4、8 天大鼠腹腔注射缩宫素氯化钠溶液(5 U/mL) 2 U/只。空白组均注射等体积 0.9% 氯化钠溶液。第 4 天注射缩宫素后 SD 大鼠处于 PDM 模型状态, 根据造模前、造模后机械痛阈值的变化率来确定高敏化组和低敏化组, 痛阈值变化率(%)=(造模后痛阈值-造模前痛阈值)÷造模前痛阈值×100%^[21]。根据大鼠造模前、第 1 次(实验第 4 天)注射缩宫素后“三阴交”(左)机械痛阈值变化率的大小进行排序, 痛阈值变化率绝对值较大的 20 只大鼠为高敏化组, 痛阈值变化率绝对值较小的 20 只大鼠为低敏化组。高敏化组 20 只按照随机数字表法随机分为模型/电针高敏化组各 10 只, 低敏化组 20 只随机分为模型/电针低敏化组各 10 只。第 8 天所有造模大鼠注射缩宫素。以注射缩宫素后大鼠出现腹部内凹、躯干与后肢伸展、一侧肢体内旋等扭体反应为造模成功的标准^[8]。实验流程见图 1。

1.4 干预方法

实验第 4 天根据“三阴交”痛阈值变化率分组后当天开始电针干预, 电针高敏化组和电针低敏化组大鼠用特制固定板固定, 参照《实验针灸学》^[22]进行穴位定位, 采用 0.30 mm×25 mm 毫针直刺双侧“三阴交”(位于后肢内踝尖直上 10 mm)约 5 mm, 在“三阴交”旁边再加刺 1 针, 针上套用透明塑料管式进针器(根据毫针长度剪裁透明塑料管至适宜长度), 将两根毫针隔开, 电针正负极分别接到每侧“三阴交”的同侧另一根毫针上。波形: 密波, 频率: 50 Hz, 刺激强度以大鼠穴位局部肌肉轻微抽搐、可耐受为度。

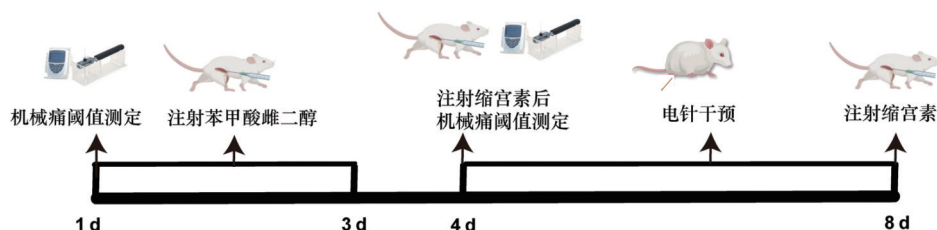


图 1 实验流程图

Fig. 1 Experimental flow chart diagram

1次/d,留针20 min,连续5 d,针刺操作由同一人完成。空白组、模型组同法固定,但不接受任何治疗,每次20 min。

1.5 观察指标及检测方法

机械痛阈值测定:采用 von Frey 电子测痛仪检测各组大鼠双侧“三阴交”的机械痛阈值,需检测造模前(实验第1天)的机械痛阈值及造模后(实验第4天)的机械痛阈值。在检测前1 d将大鼠双下肢“三阴交”附近剃毛备皮。由固定的两人进行检测。具体检测方法:安装好 von Frey 电子测痛仪,同时按下“CLR”与“MAX”键对仪器进行校准调试清零,操作者右手持 von Frey 手柄,将探针头垂直对准“三阴交”,下压探针头,控制力度以保持显示屏读数缓慢匀速增加,观察大鼠反应,当大鼠出现伸足、缩足、抽搐、甩尾、躁动等反应时,移开探针,记录者读取此时显示屏上的数值并记录,依次检测3次,每次检测时间间隔2 min以上。最终以3次检测数据中最接近的2个数据的平均值作为大鼠“三阴交”的机械痛阈值^[21]。

大鼠扭体行为学评价腹痛程度:第8天电针干预结束后,大鼠腹腔注射缩宫素30 min内,记录大鼠的扭体次数、扭体评分及扭体潜伏期。扭体反应标准:大鼠出现腹部内凹,躯干与后肢伸展,一侧肢体内旋^[8]。评分标准:0级:正常姿势,前爪平放或正常探查行为计0分;1级:身体斜向一侧计1分;2级:后肢伸展,后爪背屈,躯体伸展伴频繁的骨盆侧向旋转计2分;3级:腹部肌肉收缩,后肢伸展计3分。扭体评分=0级次数×0分+1级次数×1分+2级次数×2分+3级次数×3分^[23]。扭体潜伏期:从腹腔注射缩宫素到第1次扭体反应的时间。

激光散斑成像检测大鼠子宫血流灌注量:观察扭体反应后,每组6只大鼠腹腔注射1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉。仰卧位固定于加热垫,下腹部切开长宽各为5 cm的切口,剥离子宫系膜,暴露子宫后,置于激光散斑成像仪下测量血流值,每个部位的散斑信号记录时间为2 min。采用矩形感兴趣区域(ROI)分析每个矩形单元,在每个单元的中心设置1个面积为6 mm²的圆形ROI,利用 MoorFLPI 软件分别测量子宫上各个6 mm²圆形ROI区域的平均血流灌注量,血流灌注量以灌注单位(PU)表示,由系统软件计算得出相对血流灌注指数。实验数据通过图像采集卡保存到计算机,由配套软件 MoorFLPI Review V 5.0 进行数据显示和二次处理^[24]。

组织取材:行激光散斑成像后的大鼠直接组织取材,未进行激光散斑成像的大鼠观察扭体评分后腹腔注射1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,脱毛膏脱去大鼠“三阴交”(左)毛发,大鼠腹主动脉采血,静置1~2 h,离心15 min,取上清于EP管中,冰上取“三阴交”(左)处皮肤及子宫,皮肤和部分子宫组织置于4%多聚甲醛中固定,部分子宫组织置于电镜固定液中4℃避光固定,剩余组织和血清于-80℃冰箱保存。

HE染色观察大鼠子宫组织病理形态:将每组6只大鼠子宫组织在4%多聚甲醛中室温固定24 h,脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,以5 μm厚度横向切片;用二甲苯和梯度乙醇脱蜡,干燥,苏木精染色,伊红染色,纯水冲洗,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。常温晾干后,用光学显微镜观察大鼠子宫组织形态结构。据镜下子宫形态,无病理改变的子宫计为0分;子宫内膜变性坏死计为1分;水肿到固有层计为2分;固有层腺体增加计为3分;固有层炎性细胞浸润计为4分;子宫肌层炎性细胞浸润计为5分^[8]。

甲苯胺蓝法染色观察穴区肥大细胞脱颗粒:石蜡切片脱蜡至水,组织切片入甲苯胺蓝染液2 min,水洗,1%冰醋酸稍分化,自来水洗终止反应,自来水洗后,将切片置于烤箱烤干,透明封片,用光学显微镜观察“三阴交”皮下组织肥大细胞形态结构,使用 Fiji 分析软件计数每个视野内肥大细胞总数,以及脱颗粒肥大细胞数量(深蓝色),并计算脱颗粒率,肥大细胞脱颗粒率(%)=脱颗粒肥大细胞数÷肥大细胞总数×100%^[25]。

透射电子显微镜观察子宫组织细胞超微结构变化:取每组3只大鼠约1 mm×1 mm×1 mm大小新鲜子宫组织,于电镜固定液中4℃固定2~4 h。用0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH=7.4)漂洗3次,每次15 min。以1%的锇酸-0.1 mol/L磷酸缓冲液室温固定2 h后漂洗。漂洗后的组织依次入上行梯度乙醇、100%丙酮各两次,每次15 min。将样品插入包埋板后于37℃烤箱过夜,渗透包埋。于60℃烤箱聚合48 h后用超薄切片机行超薄切片(厚60~80 nm)。铀铅双染色,铜网切片放入铜网盒内室温干燥过夜。透射电子显微镜下观察,采集图像进行分析。

免疫荧光法检测“三阴交”穴区皮肤中 CGRP、Tryptase 蛋白表达:取石蜡切片(4 μm厚),烘片2 h,脱蜡水化、抗原修复,封闭液封闭15 min,去封闭液,

滴加 CGRP(1:500)、Tryptase(1:400)一抗,4℃孵育过夜;恢复至室温,HRP 标记的二抗室温孵育;TYR-570 荧光染料标记显色,DAPI 复染细胞核,封片,正置荧光显微镜下观察“三阴交”穴区皮肤中 CGRP、Tryptase 蛋白表达情况,使用 Fiji 软件每组随机选取相同倍数的图片进行荧光强度测定。

ELISA 法检测子宫匀浆上清液和血清中 PGE₂、PGF_{2α} 及血清中 TNF-α 含量;取大鼠子宫组织匀浆,取每组 8 只大鼠子宫组织匀浆上清液和血清,按照试剂盒说明书进行操作,加样,温育,配液,洗涤,每孔加入酶标试剂 50 μL,温育,洗涤,显色,终止,以空白孔调零,450 nm 波长依序测量各孔的吸光度,根据标准曲线计算各孔样本浓度。

Western blot 法检测子宫组织 Piezo1 及“三阴交”穴区皮肤 Piezo1、CGRP、Tryptase 蛋白的相对表达量:每组随机抽取 4 只大鼠,称取各组大鼠同侧同位段子宫组织 25 mg、各组大鼠左侧“三阴交”穴区皮肤 25 mg,研磨、裂解、离心,收集含组织总蛋白的上清液。使用 BCA 蛋白定量法测蛋白含量,配胶,每孔上样 10 μL 已变性蛋白,电泳、转膜、封闭,滴加 Piezo1、CGRP、Tryptase 一抗(1:1 000)孵育,4℃过夜,TBST 洗涤,稀释后的二抗(1:5 000)室温孵育,TBST 洗涤,ECL 显色曝光,成像,用 Quantity One 专业灰度分析软件进行分析。以 β-actin 为内参蛋白,以目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值表示目的蛋白相对表达量,并以空白组为对照进行归一化。

RT-qPCR 法检测子宫组织 Piezo1、COX-2 mRNA 的相对表达量:取各组 6 只大鼠子宫组织,采用 Trizol 法提取组织总 RNA,采用 HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit(+gDNA wiper)进行反转录得到 cDNA。按照 SYBR 法进行 qPCR 反应,按照 30 μL 反应体系:2×SYBGREEN PCR Master Mix 15 μL,上下游引物各 1 μL,ddH₂O 11 μL,Template 2 μL。PCR 反应程序为:95℃ 10 min,45 个 PCR 循环(95℃ 15 s,60℃ 30 s),采用实时荧光定量 PCR 仪进行常规熔解曲线分析(60~95℃),测定 Ct 值。以 β-actin 作为内参,按 2^{-ΔΔCt} 法计算 Piezo1、COX-2 mRNA 的相对表达量。引物序列见表 1。

1.6 统计学分析

所有数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS29.0 统计软件包进行数据分析处理。数据符合正态检验,组间整体差异比较采用单因素方差分析,方差齐两两比较选用 LSD 法,方差不齐选用

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
Piezo1	上游 AGCATACCAGGTCACACAGG	151
	下游 CGTTTGCCCAAAGGTTACAG	
COX-2	上游 CTGATGACTGCCCAACTCCC	187
	下游 GGTCTCGCTTCTGATCTGTC	
β-actin	上游 ACATCCGTAAAGACCTCTATGCC	223
	下游 TACTCCTGCTTGCTGATCCAC	

注:Piezo1 为压电蛋白 1,COX-2 为环氧化酶-2。

Tamhane's ϵ^2 检验;不符合正态分布,组间整体差异比较采用 Kruskal-Wallis 检验,两两比较采用 Mann-Whitney 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组大鼠扭体次数、扭体评分和扭体潜伏期比较

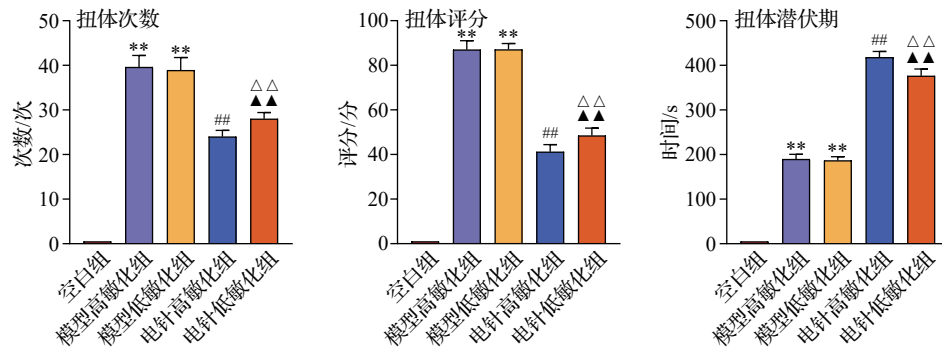
与空白组比较,两模型组大鼠的扭体次数、扭体评分均升高,出现扭体潜伏期($P < 0.01$);与模型高敏化组比较,电针高敏化组大鼠扭体次数、扭体评分降低,扭体潜伏期显著延长($P < 0.01$);与模型低敏化组比较,电针低敏化组大鼠扭体次数、扭体评分降低,扭体潜伏期显著延长($P < 0.01$);与电针高敏化组比较,电针低敏化组扭体次数、扭体评分升高,扭体潜伏期缩短($P < 0.01$)。见图 2。

2.2 各组大鼠子宫激光散斑成像及血流灌注量比较

与空白组比较,两模型组大鼠的子宫血流灌注量均显著降低($P < 0.01$);与模型高敏化组比较,电针高敏化组大鼠子宫血流灌注量显著升高($P < 0.01$);与模型低敏化组比较,电针低敏化组大鼠子宫血流灌注量显著升高($P < 0.01$);与电针高敏化组比较,电针低敏化组大鼠子宫血流灌注量显著降低($P < 0.01$)。见图 3。

2.3 各组大鼠子宫组织的病理形态学观察及病理评分的比较

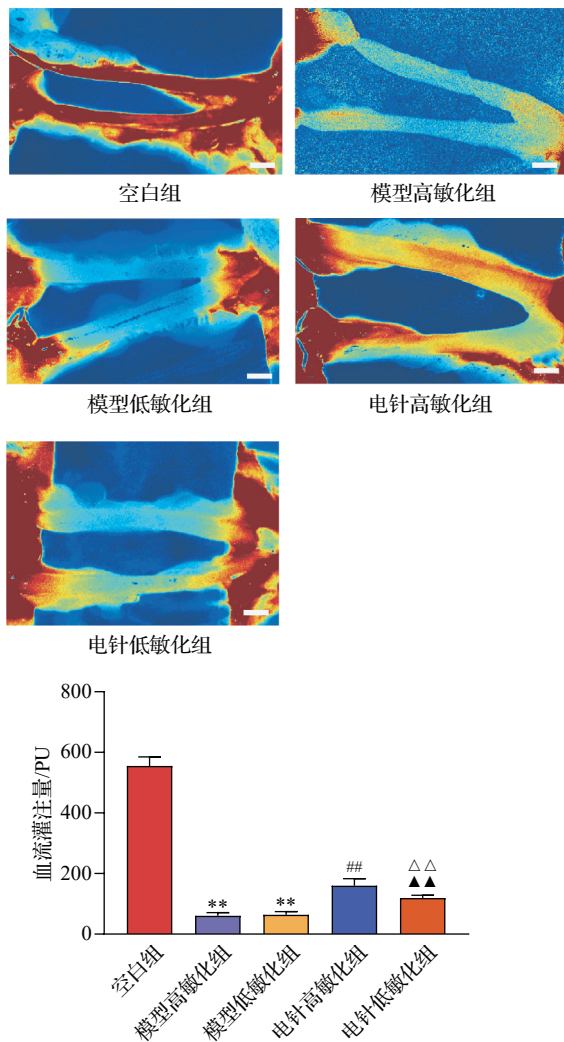
空白组上皮细胞完整,未见明显的坏死及炎性细胞浸润。模型高敏化组和模型低敏化组可见脱落的内膜上皮细胞,大量子宫内膜上皮细胞变性、肿胀、凋亡;较多腺上皮细胞变性,细胞核或固缩或碎裂;较多的粒细胞浸润。电针高敏化组和电针低



注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型高敏化组比较,## $P<0.01$;与模型低敏化组比较,▲▲ $P<0.01$;与电针高敏化组比较,△△ $P<0.01$ 。

图2 各组大鼠扭体反应比较($\bar{x}\pm s$, 10只鼠/组)

Fig. 2 Comparison of writhing reaction of rats in the 5 groups ($\bar{x}\pm s$, 10 rats/group)



注:PU为灌注单位。标尺=5 mm。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型高敏化组比较,## $P<0.01$;与模型低敏化组比较,▲▲ $P<0.01$;与电针高敏化组比较,△△ $P<0.01$ 。

图3 各组大鼠子宫激光散斑成像及血流灌注量比较($\bar{x}\pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 3 Comparison of uterine laser speckle imaging and blood flow perfusion of rats in the 5 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)

敏化组偶见子宫内膜上皮细胞胞质内含有少量的圆形空泡;固有层极少量淋巴细胞散在浸润。与空白组比较,模型高敏化组和模型低敏化组大鼠子宫病理损伤评分均显著升高($P<0.01$);与模型高敏化组比较,电针高敏化组大鼠子宫病理损伤评分显著降低($P<0.01$);与模型低敏化组比较,电针低敏化组大鼠子宫病理损伤评分显著降低($P<0.01$);与电针高敏化组比较,电针低敏化组的子宫病理损伤评分显著升高($P<0.01$)。见图4。

2.4 各组大鼠“三阴交”穴区皮肤肥大细胞脱颗粒率的比较

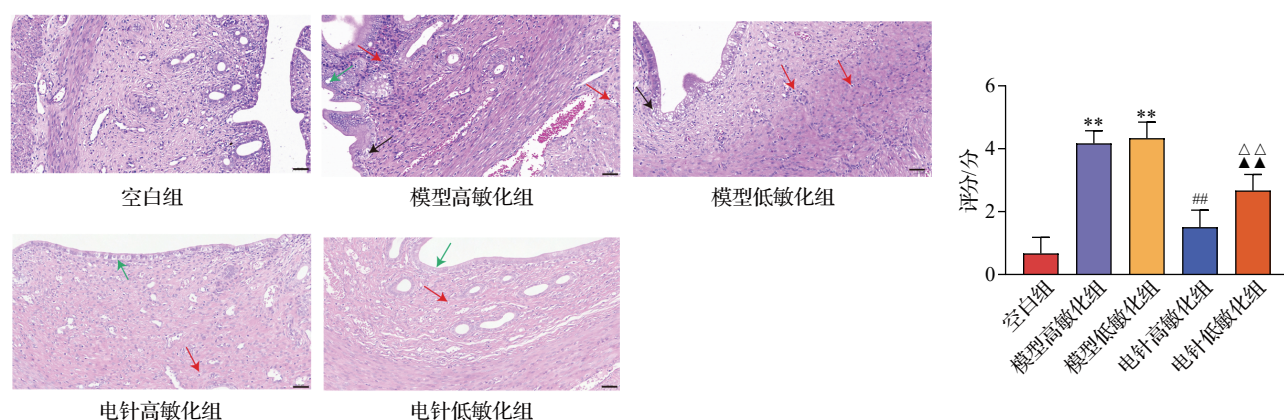
与空白组比较,模型高敏化组和模型低敏化组肥大细胞脱颗粒率显著升高($P<0.01$);与模型高敏化组比较,模型低敏化组、电针高敏化组肥大细胞脱颗粒率均显著降低($P<0.01$);与模型低敏化组比较,电针低敏化组肥大细胞脱颗粒率显著降低($P<0.01$);与电针高敏化组比较,电针低敏化组肥大细胞脱颗粒率显著升高($P<0.01$)。见图5。

2.5 各组大鼠子宫组织超微结构比较

空白组大鼠子宫组织巨噬细胞细胞膜完整,细胞核核膜完整,线粒体数量、大小均匀,粗面内质网未见扩张;两模型组细胞水肿明显,细胞膜破损,胞内基质分布不均,细胞核呈不规则形,线粒体数量减少,粗面内质网扩张呈圆泡样,该视野可见较多自噬溶酶体和自噬小体结构;电针高敏化组子宫细胞核正常、线粒体中度水肿变性,可见粗面内质网中度扩张,细胞内少量初级溶酶体分布;电针低敏化组可见细胞内大量初级、次级溶酶体混合随机分布。见图6。

2.6 各组大鼠“三阴交”穴区皮肤 CGRP、Tryptase 蛋白阳性表达的比较

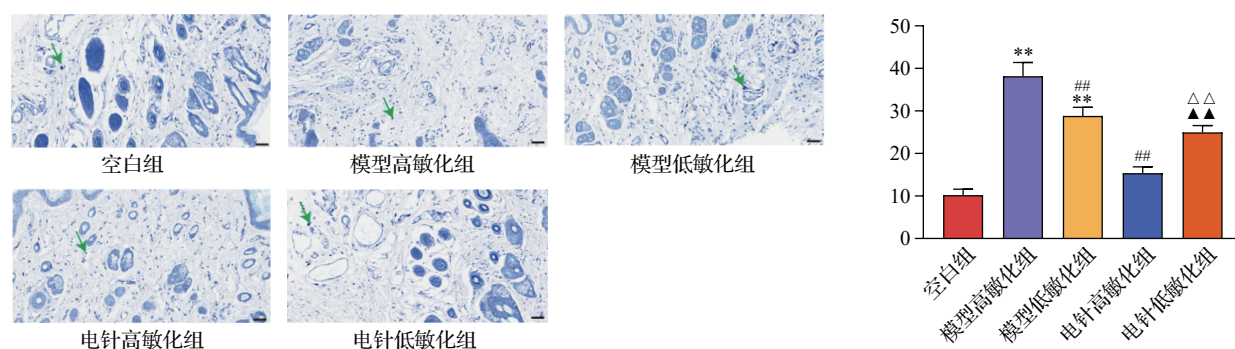
与空白组比较,两模型组大鼠“三阴交”穴区皮



注:标尺=50 μm 。黑色箭头示黏膜上皮细胞水样变性,红色箭头示淋巴细胞或粒细胞浸润,绿色箭头示上皮细胞的圆形空泡。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型高敏化组比较,## $P<0.01$;与模型低敏化组比较,▲▲ $P<0.01$;与电针高敏化组比较,△△ $P<0.01$ 。

图4 各组大鼠子宫组织形态及病理评分比较(HE染色, $\bar{x}\pm s$, 6只鼠/组)

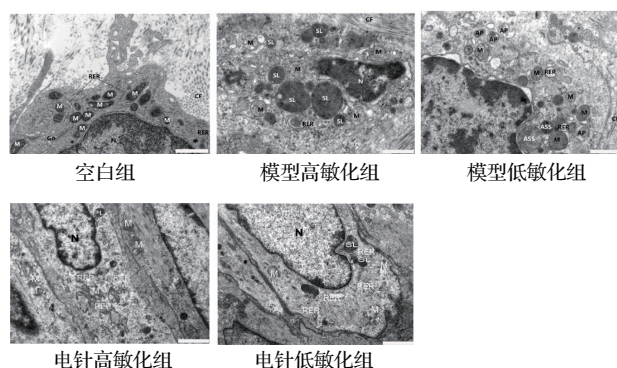
Fig. 4 Comparison of uterine histomorphology and pathological scoring of rats in the 5 groups (HE staining, $\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)



注:标尺=50 μm ,绿色箭头示脱颗粒肥大细胞。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型高敏化组比较,## $P<0.01$;与模型低敏化组比较,▲▲ $P<0.01$;与电针高敏化组比较,△△ $P<0.01$ 。

图5 各组大鼠“三阴交”穴区皮肤肥大细胞脱颗粒率比较(甲苯胺蓝染色, $\bar{x}\pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of mast cell degranulation rate in "Sanyinjiao" (SP6) subcutaneous tissue of rats in the 5 groups (Toluidine blue staining, $\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)



注:N指示细胞核,M指示线粒体,RER指示粗面内质网,ASS指示自噬溶酶体,PL指示初级溶酶体,SL指示次级溶酶体。标尺=1 μm 。

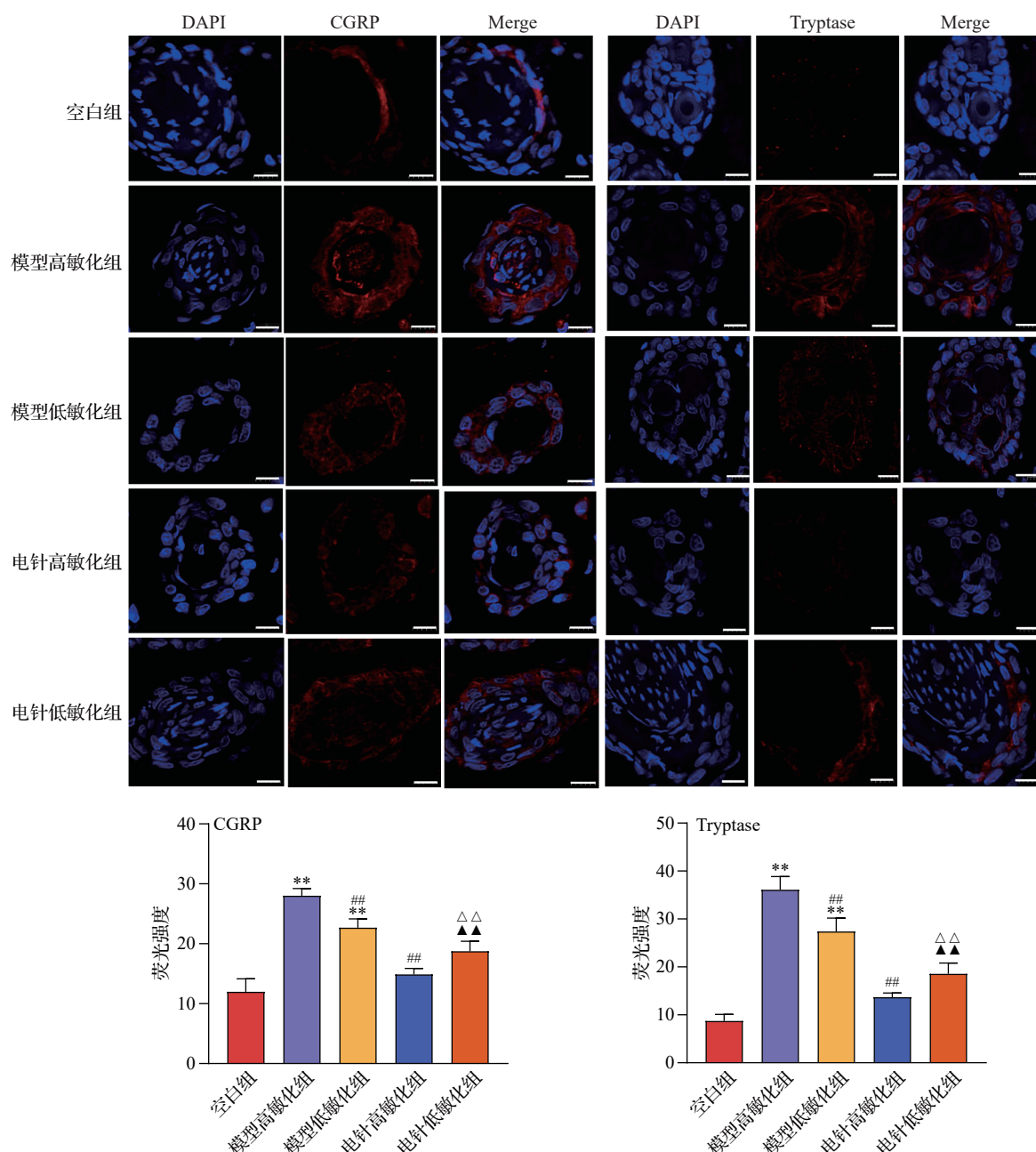
图6 各组大鼠子宫组织超微结构比较(透射电子显微镜)

Fig. 6 Comparison of ultrastructural changes in uterine tissue of rats in the 5 groups (transmission electron microscopy)

肤 CGRP、Tryptase 阳性表达均显著升高 ($P<0.01$);与模型高敏化组比较,模型低敏化组和电针高敏化组 CGRP、Tryptase 阳性表达显著降低 ($P<0.01$);与模型低敏化组比较,电针低敏化组 CGRP、Tryptase 阳性表达显著降低 ($P<0.01$);与电针高敏化组比较,电针低敏化组 CGRP、Tryptase 阳性表达均显著升高 ($P<0.01$)。见图7。

2.7 各组大鼠血清和子宫匀浆上清液 $\text{PGF}_2\alpha$ 、 PGE_2 和血清 $\text{TNF-}\alpha$ 含量比较

与空白组相比,两模型组大鼠血清和子宫 $\text{PGF}_2\alpha$ 含量、血清 $\text{TNF-}\alpha$ 含量和 $\text{PGF}_2\alpha/\text{PGE}_2$ 比值显著升高 ($P<0.01$),血清和子宫 PGE_2 含量显著降低 ($P<0.01$);与模型高敏化组比较,电针高敏化组上述指标均逆转 ($P<0.01$);与模型低敏化组比较,电针低敏化组上述指标均逆转 ($P<0.01$, $P<0.05$);



注:CGRP为降钙素基因相关肽,Tryptase为类胰蛋白酶。标尺=12.5 μ m。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型高敏化组比较,### $P<0.01$;与模型低敏化组比较, $\Delta\Delta$ $P<0.01$;与电针高敏化组比较, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ 。

图7 各组大鼠“三阴交”穴区皮肤CGRP、Tryptase阳性表达比较(免疫荧光染色, $\bar{x}\pm s$,6只鼠/组)

Fig. 7 Comparison of CGRP and Tryptase positive expressions in “Sanyinjiao” (SP6) subcutaneous tissue of rats in the 5 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)

与电针高敏化组比较,电针低敏化组血清和子宫PGF₂ α 含量、血清TNF- α 含量和PGF₂ α /PGE₂比值显著升高($P<0.01$),血清和子宫PGE₂含量显著降低($P<0.01$)。见图8。

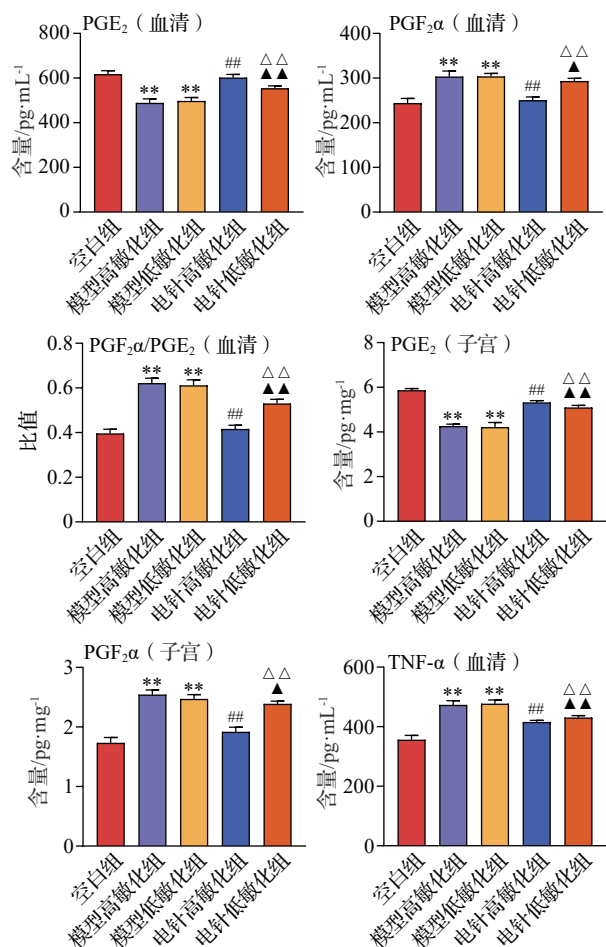
2.8 各组大鼠“三阴交”穴区皮肤Piezo1、Tryptase、CGRP蛋白表达比较

与空白组比较,两模型组大鼠“三阴交”皮肤中Piezo1、Tryptase、CGRP蛋白表达均显著升高($P<0.01$);与模型高敏化组比较,模型低敏化组、电针高

敏化组Piezo1、Tryptase、CGRP蛋白表达显著降低($P<0.01$);与模型低敏化组比较,电针低敏化组Piezo1、Tryptase、CGRP蛋白表达显著降低($P<0.01$);与电针高敏化组比较,电针低敏化组Piezo1、Tryptase、CGRP蛋白表达显著升高($P<0.01$)。见图9。

2.9 各组大鼠子宫组织Piezo1蛋白表达比较

与空白组比较,两模型组大鼠子宫组织Piezo1蛋白表达均显著升高($P<0.01$);与模型



注: PGE₂ 为前列腺素 E₂, PGF_{2α} 为前列腺素 F_{2α}, TNF-α 为肿瘤坏死因子-α。与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型高敏化组比较, ## $P < 0.01$; 与模型低敏化组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$; 与电针高敏化组比较, △△ $P < 0.01$ 。

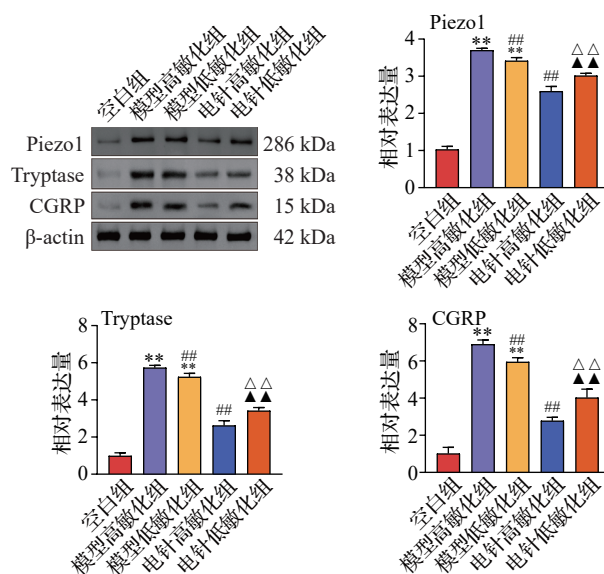
图8 各组大鼠血清与子宫 PGF_{2α}、PGE₂ 含量及血清 TNF-α 含量比较 ($\bar{x} \pm s$, 8 只鼠/组)

Fig. 8 Comparison of serum and uterine PGF_{2α} and PGE₂ contents and serum TNF-α contents of rats in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 8 rats/group)

高敏化组比较, 模型低敏化组、电针高敏化组 Piezo1 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型低敏化组比较, 电针低敏化组 Piezo1 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$); 与电针高敏化组比较, 电针低敏化组 Piezo1 蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$)。见图 10。

2.10 各组大鼠子宫组织 Piezo1、COX-2 mRNA 表达的比较

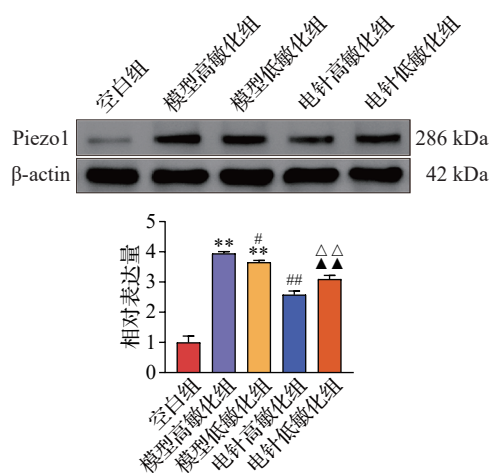
与空白组比较, 两模型组大鼠子宫 Piezo1、COX-2 mRNA 表达均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型高敏化组比较, 模型低敏化组、电针高敏化组 Piezo1、COX-2 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$); 与模型低敏化组比较, 电针低敏化组 Piezo1、COX-2



注: Piezo1 为压电蛋白 1, Tryptase 为类胰蛋白酶, CGRP 为降钙素基因相关肽。与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型高敏化组比较, ## $P < 0.01$; 与模型低敏化组比较, ▲▲ $P < 0.01$; 与电针高敏化组比较, △△ $P < 0.01$ 。

图9 各组大鼠“三阴交”穴区皮肤 Piezo1、Tryptase、CGRP 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, 4 只鼠/组)

Fig. 9 Comparison of Piezo1, Tryptase, and CGRP protein expression levels in “Sanyinjiao”(SP6) subcutaneous tissue of rats in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 4 rats/group)

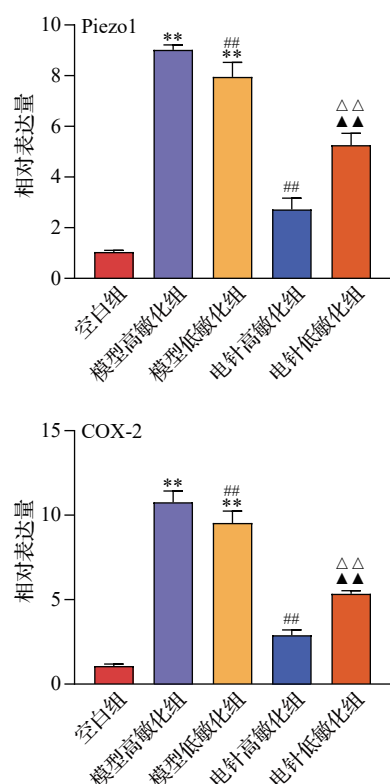


注: Piezo1 为压电蛋白 1。与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型高敏化组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与模型低敏化组比较, ▲▲ $P < 0.01$; 与电针高敏化组比较, △△ $P < 0.01$ 。

图10 各组大鼠子宫组织 Piezo1 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, 4 只鼠/组)

Fig. 10 Comparison of Piezo1 protein expression in uterine tissue of rats in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 4 rats/group)

mRNA 表达降低 ($P < 0.01$); 与电针高敏化组比较, 电针低敏化组 Piezo1、COX-2 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)。见图 11。



注:Piezo1为压电蛋白1,COX-2为环氧合酶-2。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型高敏化组比较,*** $P<0.01$;与模型低敏化组比较,△△ $P<0.01$;与电针高敏化组比较,△△ $P<0.01$ 。

图 11 各组大鼠子宫组织 Piezo1、COX-2 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$,6 只鼠/组)

Fig. 11 Comparison of Piezo1 and COX-2 mRNA expression levels in uterine tissue of rats in the 5 groups ($\bar{x}\pm s$,6 rats/group)

3 讨论

痛经属中医“经行腹痛”范畴,治疗关键在于调理肝、脾、肾及冲任二脉。三阴交是足三阴经交会穴,针刺该穴治疗PDM具有较好的即刻镇痛效应^[26]。研究采用模型高敏化组与电针高敏化组、模型低敏化组与电针低敏化组的平行设计,旨在比较电针不同敏化状态“三阴交”的效应,研究结果显示,“三阴交”在疾病状态下可出现穴位敏化现象,电针“三阴交”可显著改善PDM大鼠的疼痛、子宫病理损伤及血流灌注,下调COX-2 mRNA表达与炎症因子水平,验证了无论电针干预低敏或高敏的“三阴交”均有治疗PDM的作用。在扭体反应、血流灌注量、COX-2 mRNA表达及PGE₂、PGF_{2α}、TNF-α含量改变上,电针高敏化“三阴交”穴组的效应更佳,表明电针干预高敏和低敏化“三阴交”在上述指标相关的作用机制上存在差异。以往研究表明,月经期间子宫花生四烯酸在环氧合酶的作用下生成PGs,COX-2、PGF_{2α}水平及PGF_{2α}/PGE₂比值

升高会引起子宫平滑肌的过度收缩^[6,27],而PGE₂则具有抑制收缩、促进子宫平滑肌松弛的作用^[6]。本研究应用激光散斑成像技术直观显示电针后子宫血流量的动态变化,为电针改善子宫微循环提供了直观证据。有研究团队提出“辨敏施术”新概念,认为该法可以提高临床疗效^[28],本研究结论与穴位敏化的既往临床研究结果^[29]具有一致性。为临床“辨敏施术”提供了实验依据。本研究的难点在于穴位敏化状态的判定,后续可结合伊文氏蓝渗出等方法,进一步提升判定的直观性与准确性。

本研究结果显示,在PDM大鼠模型中,“三阴交”中的Piezo1表达显著上调,且与肥大细胞脱颗粒率及脱颗粒标志物Tryptase和CGRP的表达升高趋势一致,同时Piezo1在模型高敏化组中表达高于低敏化组,电针高敏化组下调Piezo1的作用大于电针低敏化组,提示Piezo1可能参与穴位敏化的过程,不同“三阴交”敏化程度下电针下调Piezo1表达的作用存在差异。既往研究表明,大鼠的敏化区皮肤中出现肥大细胞的募集和脱颗粒^[25],神经肽CGRP释放引起体表局部出现神经源性炎症反应,可能是介导穴位敏化的原因^[30]。结合“腧穴-脏腑相关”理论^[31],可推测子宫的炎症反应与异常收缩可能通过体表-内脏神经反射或体液途径激活了“三阴交”穴区的Piezo1通道,与局部肥大细胞脱颗粒与神经源性炎症反应一起,共同介导了穴位敏化。Piezo1是机械门控阳离子通道蛋白,组织和细胞受到外界机械力刺激后会产生机械转导^[32],并转导为电、渗透压或化学细胞内信号^[16]。电针的机械刺激,在穴区层面可以调控穴区Piezo1表达,在子宫层面可以下调Piezo1、COX-2及其下游的PGF_{2α}等炎症因子,直接缓解子宫的痉挛性收缩并改善血流灌注。电针高敏化组较低敏化组下调幅度更大,表明电针干预低敏化与高敏化穴位的作用机制存在差异,结果提示,电针高敏化穴位的优势疗效,可能源于其对Piezo1/COX-2/PGs信号通路中关键信号分子表达的更强抑制作用,但其疗效优势的机制还需进一步验证。这也与以往研究^[33]穴区Piezo通道可能参与针刺镇痛的启动机制结论相符。表明Piezo1不仅是介导穴位敏化的分子,也是电针将机械信号转化为多层次生物学效应的关键枢纽,充分阐释了电针治疗PDM多途径、多靶点的作用特点。

综上所述,电针不同敏化状态“三阴交”均能有效缓解PDM大鼠的疼痛,且电针高敏化组效应更佳。其作用机制存在穴位敏化状态依赖性,可能通

过调控穴区 Piezo1 的表达,抑制肥大细胞脱颗粒和神经源性炎症反应,并下调子宫 Piezo1/COX-2/PGs 通路蛋白的表达,抑制炎症因子释放,改善子宫微循环来减轻疼痛。Piezo1 通道是连接针刺机械性刺激与生物学效应的关键分子,可能成为揭示穴位敏化与针灸机制的新靶点。本研究不足之处是未能在 Piezo1 基因敲除动物模型中观察穴位敏化和电针效应的改变,尚未能完全阐明 Piezo1 的具体上游激活机制及其与中枢系统的联动关系,今后将围绕上述问题开展深入探索。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] KHO K A, SHIELDS J K. Diagnosis and management of primary dysmenorrhea[J]. *Jama*, 2020, 323(3): 268.
- [2] WANG L W, YAN Y H, QIU H Y, et al. Prevalence and risk factors of primary dysmenorrhea in students: a meta-analysis[J]. *Value Health*, 2022, 25(10): 1678-1684.
- [3] BARCIKOWSKA Z, RAJKOWSKA-LABON E, GRZYBOWSKA M E, et al. Inflammatory markers in dysmenorrhea and therapeutic options[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(4): 1191.
- [4] 聂文佳,徐帅师,张咏梅.原发性痛经治疗方法的研究进展[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(4): 683-689.
NIE W J, XU S S, ZHANG Y M. Research progress in treatment of primary dysmenorrhea (in Chinese)[J]. *Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 2021, 27(4): 683-689.
- [5] TAHIR A, NASEER B, SHAFQA F. Perception of university students about the use of painkillers, other remedies and lifestyle modifications for primary dysmenorrhea; a cross-sectional study at KEMU[J]. *BMC Women's Health*, 2025, 25(1): 234.
- [6] 潘思安,刘余,汪少华,等.基于PI3K/Akt/mTOR信号通路探讨电针治疗原发性痛经大鼠的机制[J]. *针刺研究*, 2023, 48(12): 1258-1265.
PAN S A, LIU Y, WANG S H, et al. Mechanisms of acupuncture for primary dysmenorrhea based on PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in rats (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2023, 48(12): 1258-1265.
- [7] 段雯雯,王富春.针灸治疗原发性痛经的作用机制概况[J]. *中国中医急症*, 2022, 31(9): 1485-1488, 1504.
DUAN W W, WANG F C. General situation of the mechanism of acupuncture and moxibustion in treating primary dysmenorrhea (in Chinese)[J]. *Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine*, 2022, 31(9): 1485-1488, 1504.
- [8] 薛晓,刘余,汪少华,等.电针对原发性痛经大鼠 Toll 样受体 4/核转录因子 κ B 信号通路的影响[J]. *针刺研究*, 2023, 48(1): 63-70.
XUE X, LIU Y, WANG S H, et al. Effect of electroacupuncture intervention on relieving pain and inflammation by suppressing TLR4/NF- κ B signaling in rats with primary dysmenorrhea (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2023, 48(1): 63-70.
- [9] 薛晓,汪少华,袁茵钰,等.基于数据挖掘分析针刺治疗原发性痛经腧穴配伍规律[J]. *湖南中医药大学学报*, 2022, 42(7): 1185-1190.
XUE X, WANG S H, YUAN H Y, et al. The acupoint compatibility rules of acupuncture in the treatment of primary dysmenorrhea based on data mining (in Chinese)[J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan*, 2022, 42(7): 1185-1190.
- [10] 曹若茜,乔海法,寇文琴.原发性痛经穴位敏化的规律及理论探讨[J]. *世界中医药*, 2022, 17(11): 1617-1620, 1626.
CAO R H, QIAO H F, KOU W Q. Rule and theory of acupoint sensitization of primary dysmenorrhea (in Chinese)[J]. *World Chinese Medicine*, 2022, 17(11): 1617-1620, 1626.
- [11] 孙铭声,薛哲,于岩瀑,等.针刺三阴交单穴及多穴对原发性痛经即刻镇痛效应临床观察[J]. *上海针灸杂志*, 2015, 34(12): 1151-1153.
SUN M S, XUE Z, YU Y P, et al. Clinical study on the real-time analgesic effect of acupuncture at Sanyinjiao (SP6) versus multiple points for primary dysmenorrhea (in Chinese)[J]. *Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion*, 2015, 34(12): 1151-1153.
- [12] 刘静,王立,李芳,等.热敏灸不同单穴治疗原发性痛经即刻止痛效应及疗效观察[J]. *江西中医药大学学报*, 2021, 33(1): 72-75.
LIU J, WANG L, LI F, et al. Observation on immediate analgesic effect and curative effect of thermal-sensitive moxibustion at different single-point in the treatment for primary dysmenorrhea (in Chinese)[J]. *Journal of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 33(1): 72-75.
- [13] 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.
ZHU B. The sensitization phenomenon of acupoint and biological significances (in Chinese)[J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2019, 39(2): 115-121.
- [14] 高昕妍.穴位敏化:疾病诊治的纽带[J]. *针刺研究*, 2025, 50(5): 504-512.
GAO X Y. Acupoint sensitization: bond of disease diagnosis and therapy (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(5): 504-512.
- [15] ZHAO L, SUN M S, YIN Z H, et al. Long-term effects of individualized acupuncture for chronic neck pain: a randomized controlled trial[J]. *Ann Intern Med*, 2024, 177(10): 1330-1338.
- [16] 张小丽,黎玉华,刘静莹,等. Piezo1 在肌肉组织中作用的研究进展[J]. *生命科学*, 2025, 37(6): 656-662.
ZHANG X L, LI Y H, LIU J X, et al. Research progress of Piezo1 in the muscle tissue (in Chinese)[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2025, 37(6): 656-662.
- [17] XUE Y C, WINNICKI E, ZHANG Z X, et al. The mechanotransducer Piezo1 coordinates metabolism and

- inflammation to promote skin growth [J]. *Nat Commun*, 2025, 16: 6876.
- [18] BARNETT S D, ASIF H, BUXTON I L O. Novel identification and modulation of the mechanosensitive Piezo1 channel in human myometrium [J]. *J Physiol*, 2023, 601(9): 1675-1690.
- [19] BI Y M, LI H, DIAO M, et al. Piezo1 overexpression in the uterus contributes to myometrium contraction and inflammation-associated preterm birth [J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 1140.
- [20] HONG F, HE G Y, ZHANG M Q, et al. The establishment of a mouse model of recurrent primary dysmenorrhea [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 6128.
- [21] 郑倩华, 吴强, 蒋一璐, 等. 针刺不同敏化状态穴位对KOA模型大鼠的关节软骨形态和关节腔液炎症因子的作用[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(4): 982-985.
- ZHENG Q H, WU Q, JIANG Y L, et al. Acupuncture at different sensitized acupoints on cartilage morphology and inflammatory factor in rats with knee osteoarthritis (in Chinese) [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2020, 31(4): 982-985.
- [22] 余曙光, 徐斌. 实验针灸学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- YU S G, XU B. *Experimental acupuncture* (in Chinese) [M]. 2nd edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2016.
- [23] 孟祥云, 高飞, 王迪, 等. 温和灸对寒湿凝滞型原发性痛经大鼠下丘脑BDNF/TrkB信号通路蛋白表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2024, 31(3): 127-131.
- MENG X Y, GAO F, WANG D, et al. Effects of mild moxibustion on proteins expression of BDNF/TrkB signaling pathway in hypothalamus of primary dysmenorrhea rats with cold and dampness stagnation syndrome (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2024, 31(3): 127-131.
- [24] 林杪, 张明健, 范玺胜, 等. 原发性痛经患者任、督、冲三脉经穴体表微循环研究[J]. *中国针灸*, 2023, 43(9): 1042-1047.
- LIN M, ZHANG M J, FAN X S, et al. The skin surface microcirculation of Conception Vessel, Governor Vessel and Thoroughfare Vessel in patients with primary dysmenorrhea (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2023, 43(9): 1042-1047.
- [25] 王巧侠, 丁宁, 姜婧, 等. 膝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.
- WANG Q X, DING N, JIANG J, et al. Mastocytes mechanism of acupoint sensitization in KOA rats (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion*, 2018, 34(10): 51-55.
- [26] 宋越, 马良宵, 甘莹莹, 等. 直刺与沿皮刺“三阴交”对寒凝证类痛经大鼠精氨酸加压素及其受体的影响[J]. *针刺研究*, 2020, 45(11): 895-901.
- SONG Y, MA L X, GAN Y Y, et al. Perpendicular and transverse needling of “Sanyinjiao” (SP6) relieves abdominal pain by regulating arginine vasopressin and its receptor expression levels in uterus and hypothalamus in cold-stasis type dysmenorrhea rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2020, 45(11): 895-901.
- [27] 马筠程, 史渊源, 刘震, 等. 基于COX-2/NF- κ B信号通路探讨双花饮治疗原发性痛经的药效及作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(12): 72-80.
- MA Y C, SHI Y Y, LIU Z, et al. Efficacy and mechanism of Shuanghua drink in treating primary dysmenorrhea based on COX-2/NF- κ B signaling pathway (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2025, 31(12): 72-80.
- [28] 陈日新, 黄仙保, 谢丁一, 等. 试论针灸辨敏施术新模式[J]. *中国针灸*, 2022, 42(6): 665-668.
- CHEN R X, HUANG X B, XIE D Y, et al. Discussion of novel mode of acupuncture and moxibustion based on identifying the acupoint sensitization (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2022, 42(6): 665-668.
- [29] 廖晨希. 针刺敏化穴治疗慢性盆腔炎的临床随机对照试验[D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
- LIAO C X. *Acupuncture for chronic pelvic inflammatory disease with sensitive acupoints: a randomized controlled trial* (in Chinese) [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2023.
- [30] 杨雪, 郑璇, 袁伟, 等. 降钙素基因相关肽在胃溃疡模型小鼠穴位敏化中的作用研究[J]. *上海针灸杂志*, 2024, 43(1): 81-88.
- YANG X, ZHENG X, YUAN W, et al. Study of the role of calcitonin gene-related peptide in acupoint sensitization in gastric ulcer mice (in Chinese) [J]. *Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion*, 2024, 43(1): 81-88.
- [31] 付红娟, 齐文川, 唐勇, 等. 穴位敏化动态过程的科学基础[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(11): 4378-4385.
- FU H J, QI W C, TANG Y, et al. The scientific basis of the dynamic process in acupoint sensitization (in Chinese) [J]. *World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 24(11): 4378-4385.
- [32] 刘鲁冰, 刘雪环, 李媛. 机械敏感性离子通道Piezo1的生理作用[J]. *生理科学进展*, 2024, 55(2): 155-162.
- LIU L B, LIU X H, LI Y. Physiological roles of the mechanosensitive channel Piezo1 (in Chinese) [J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2024, 55(2): 155-162.
- [33] 李雨佳, 郑雅文, 左维敏, 等. 穴位机械敏感性Piezo通道在针刺缓解大鼠关节炎症性痛启动机制中的作用[J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(6): 2908-2914.
- LI Y J, ZHENG Y W, ZUO W M, et al. Involvement of mechanosensitive Piezo channels at acupoints in the initiation mechanism of acupuncture analgesia on rat ankle arthritis (in Chinese) [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2023, 38(6): 2908-2914.