

☆ 机制探讨 ☆

电针“足三里”恢复糖尿病前期血糖稳态的
效应机制研究

李雅静, 朱溶瑾, 宿杨帅, 李 桐, 刘筱羽, 王莉莉, 景向红
(中国中医科学院针灸研究所, 北京 100700)

【摘要】 目的:观察电针“足三里”对急性高糖、低风险及高风险糖尿病前期小鼠的血糖调控效应,并初步探讨电针调节低风险糖尿病前期胰岛 β 细胞功能的作用机制。方法:本研究分为急性高糖、低风险糖尿病前期、高风险糖尿病前期3部分实验,每部分实验中将C57BL/6J小鼠随机分为正常组、模型组、电针组,急性高糖和高风险糖尿病前期实验每组6只,低风险糖尿病前期实验每组30只。急性高糖实验中,采用腹腔注射2 g/kg葡萄糖溶液制备模型;电针组小鼠予以双侧“足三里”行1次电针干预,持续20 min。低风险糖尿病前期实验中,采用高脂喂养1周制备模型;自第4天达糖尿病前期血糖受损标准起,对电针组小鼠行电针干预,参数同上,每日1次,共4次。高风险糖尿病前期实验中,采用高脂喂养8周制备模型;造模4周后对电针组小鼠行电针干预,参数同上,每周3次,共12次。采用血糖仪检测小鼠血糖及糖耐量;酶联免疫吸附法检测血清糖化血红蛋白、胰岛素、胰高血糖素含量;HE染色法观察胰腺形态变化;分离胰岛 β 细胞并以PCR法检测胰岛 β 细胞标志物的表达;Western blot法检测胰岛 β 细胞中内质网应激(ATF6、ERN1、EIF2AK3)、细胞衰老(P21)、乙酰胆碱受体(M2-AchR、M3-AchR)蛋白表达水平;免疫荧光染色法检测胰腺组织中胰岛 β 细胞衰老标志物P21、胰内神经节及迷走神经背核(DMV)中支配胰腺的ChAT⁺神经元中c-fos阳性表达。结果:急性高糖实验中,与正常组相比,模型组小鼠血糖升高($P<0.001$),血清胰岛素含量增加($P<0.05$);与模型组相比,电针组小鼠15、30、60 min血糖均降低($P<0.01$),血清胰岛素含量增加($P<0.05$)。低风险糖尿病前期实验中,与正常组相比,模型组小鼠造模第3天血糖升高($P<0.001$),糖耐量升高($P<0.05, P<0.01$),胰岛 β 细胞中M2-AchR和M3-AchR乙酰胆碱受体蛋白表达水平降低($P<0.05$),ATF6、ERN1、EIF2AK3蛋白表达水平升高($P<0.01, P<0.05$),P21蛋白表达水平增加($P<0.05$),Insulin⁺/P21⁺共标细胞数量增加($P<0.01$);与模型组相比,电针组小鼠血糖在第4、6、7天降低($P<0.001, P<0.01$),糖耐量降低($P<0.05, P<0.01$),血清胰岛素含量增加($P<0.05$),胰内神经节及DMV中支配胰腺的ChAT⁺/c-fos⁺共标神经元增多($P<0.05$),胰岛 β 细胞中M2-AchR和M3-AchR乙酰胆碱受体蛋白表达水平升高($P<0.01, P<0.05$),ATF6、ERN1、EIF2AK3蛋白表达水平降低($P<0.01, P<0.05$),P21蛋白表达水平降低($P<0.05$),Insulin⁺/P21⁺共标细胞数量减少($P<0.01$)。高风险糖尿病前期实验中,与正常组相比,模型组小鼠造模1周的血糖升高($P<0.001$),糖耐量升高($P<0.05, P<0.01$),血清糖化血红蛋白升高($P<0.05$),胰岛体积增大,血清胰岛素含量升高($P<0.01$),血清胰高血糖素含量降低($P<0.05$);与模型组相比,电针组小鼠血糖在第5、6周降低($P<0.01, P<0.05$),胰岛体积略缩小,血清胰岛素和胰高血糖素均降低($P<0.01, P<0.05$)。结论:电针“足三里”可恢复血糖平衡且最优效应阶段为低风险糖尿病前期,其机制可能与激活迷走神经抑制胰岛 β 细胞内质网应激有关。

【关键词】 电针;足三里;糖尿病前期;迷走神经;内质网应激

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20250584

引用格式:李雅静,朱溶瑾,宿杨帅,等.电针“足三里”恢复糖尿病前期血糖稳态的效应机制研究[J].针刺研究,2026,51(5):545-558.

项目来源:国家自然科学基金C类项目(No.82505783);国家自然科学基金面上项目(No.82574924);中国中医科学院青年科研人员培养专项(No.ZZ18-XRZ-067);中国中医科学院针灸研究所基本科研业务费自主选题项目(No.ZZ-20242223);中国中医科学院科技创新工程项目资助项目(No.CIZJS2025010)

通信作者:景向红, E-mail: jxhtjb@263.net

Study on the underlying mechanisms of electroacupuncture at “Zusanli” (ST36) in restoring blood glucose homeostasis in prediabetes mice

LI Ya-jing, ZHU Rong-jin, SU Yang-shuai, LI Tong, LIU Xiao-yu, WANG Li-li, JING Xiang-hong (Institute of Acupuncture and Moxibustion, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

【ABSTRACT】 Objective To observe the effect of electroacupuncture (EA) at “Zusanli” (ST36) on blood glucose in acute hyperglycemia (AH), low-risk prediabetes (LRP) and high-risk prediabetes (HRP) mice, and to explore its underlying mechanisms in regulating the function of pancreatic β -cells in LRP. **Methods** This study included 3 (AH, LRP and HRP) experiments. In each part of the experiments, C57BL/6J mice were randomly divided into normal, model and EA groups, with 6 mice in each group in AH and HRP experiments, and 30 mice in LRP experiment. The AH model was established by intraperitoneal injection of 2 g/kg glucose solution. After injection, EA (1 mA, 10 Hz) was applied to bilateral “Zusanli” (ST36) for 20 min. The LRP model was established by feeding the mice with high-fat diet for 1 week. From the 4th day when the impaired glucose tolerance criteria of prediabetes were reached, EA was applied to bilateral ST36, with the parameters being the same as above, once a day for a total of 4 times. In the HRP experiment, the animal model was established by feeding the mice with a high-fat diet for 8 weeks. Four weeks after beginning of the modeling, EA intervention (1 mA, 10 Hz) was performed at ST36 for 20 min, 3 times a week for a total of 12 times. Blood glucose and glucose tolerance were measured using a glucose meter, and serum glycated hemoglobin (HbA1c), insulin, and glucagon levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Changes of the pancreatic morphology were examined by HE staining. The expression levels of activating transcription factor 6 (ATF6), ERN1 (endoplasmic reticulum [ER] to nucleus signaling 1), EIF2AK3 (eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 3), p21 (a cell cycle factor in cellular senescence), muscarinic acetylcholine receptor M2 (M2-AchR) and M3-AchR in the pancreatic β -cells were detected using Western blot, and the expression levels of pancreatic and duodenal homeobox factor-1 (PDX-1), beta-cell-specific transcription factor (MAFA) and forkhead box O1 (FOXO1) mRNAs in the pancreatic β -cells detected using quantitative real-time PCR. The insulin⁺/P21⁺ co-positive cells, and the number of ChAT⁺/c-fos⁺ co-labeled neurons in the pancreatic ganglia and ChAT⁺/CTB647/c-fos⁺ co-labeled neurons in the dorsal motor nucleus of the vagus (DMV) innervating the pancreas were determined using fluorescent immunohistochemistry. **Results** 1) In the AH experiment, compared to the normal group, the blood glucose level in the model group was significantly increased 15 min after modeling ($P<0.001$), gradually decreased from 30 to 60 min ($P<0.01$), without pathological damage in the pancreas, and the serum insulin level was significantly increased after modeling ($P<0.05$). In comparison with the model group, the blood glucose levels at 15, 30, and 60 min were significantly reduced (all $P<0.01$), while the serum insulin content was considerably increased in the EA group ($P<0.05$), suggesting that EA lowered blood glucose by increasing stress-induced insulin level. 2) In the LRP experiment, compared to the normal group, the blood glucose levels from the 3rd day to the 7th day, and the glucose tolerance from 15 to 120 min were significantly elevated in the model group ($P<0.001$, $P<0.05$, $P<0.01$). No significant changes were found in the serum HbA1c, serum insulin and glucagon levels and in the morphological results of the pancreas tissue in the model group. In comparison with the model group, the blood glucose levels on day 4, 6 and 7, the glucose tolerance at 15, 30, 60 and 120 min were strikingly decreased ($P<0.001$, $P<0.01$, $P<0.05$), while the serum insulin content was notably increased ($P<0.05$) in the EA group, accompanied with a restoration of the morphological changes. No significant changes were found in the serum HbA1c and glucagon levels after modeling and after EA intervention. 3) In the HRP experiment, compared to the normal group, the blood glucose levels from 1 to 8 weeks, the glucose tolerance levels at 15, 30, 60 and 120 min, HbA1c and insulin levels were significantly increased ($P<0.001$, $P<0.05$, $P<0.01$), whereas the serum glucagon level was notably decreased in the model group ($P<0.05$), accompanied with an increase of the pancreatic islet volume. Following EA intervention, the blood glucose at the 5th and 6th week, the glucose tolerance at 15, 30, 60 and 120min, insulin and glucagon levels were considerably down-regulated in the EA group ($P<0.05$, $P<0.01$), accompanied with a slight decrease of the pancreatic islet volume. 4) In LRP mice, in comparison with the normal group, the expression levels of M2-AchR and M3-AchR protein were significantly decreased ($P<0.05$), while the expression levels of ATF6, ERN1, EIF2AK3, P21 and the number of insulin⁺/P21⁺ positive cells in the pancreas tissue were significantly increased in the model group ($P<0.01$, $P<0.05$). In contrast to the model group, the EA group had an obvious increase in the number of c-fos⁺/CTB647/ChAT⁺ co-labeled

neurons in the DMV and ChAT⁺/c-fos⁺ co-labeled neurons in the pancreatic ganglia, and the expression of M2-AchR and M3-AchR protein ($P<0.05$, $P<0.01$), and a notable down-regulation in the expression levels of ATF6, ERN1, EIF2AK3 and P21 proteins and in the number of pancreatic insulin⁺/P21⁺ positive cells ($P<0.01$, $P<0.05$). No significant changes were found in the number of c-fos⁺/CTB647/ChAT⁺ co-labeled neurons in the DMV and ChAT⁺/c-fos⁺ co-labeled neurons in the pancreatic ganglia in the model group, and in the mRNA expression levels of pancreatic PDX1, MAFA and FOXO1 in both model and EA groups. **Conclusion** EA at ST36 can promote the restoration of blood glucose balance in the AH, LRP and HRP stages in mice, with the most effective phase being the LRP. The underlying mechanism may be related to its functions in activating vagus nerve to inhibit the endoplasmic reticulum stress in pancreatic β -cells.

【KEYWORDS】 Electroacupuncture; Zusanli (ST36); Prediabetes; Vagus nerve; Endoplasmic reticulum stress

糖尿病是以慢性高血糖为特征的内分泌代谢疾病,已成为威胁人类健康的重要公共卫生问题^[1]。糖尿病前期是血糖高于正常水平但未达到糖尿病诊断标准的状态,是正常机体向糖尿病发展的高危阶段^[2-3]。2021年全球糖尿病前期患病率为14.9%(7.62亿),预计2045年将增加至16.5%(10.52亿)^[4]。糖尿病前期包括空腹血糖受损(IFG)和糖耐量受损(IGT)两种状态的单独或合并出现^[5],诊断标准为 $6.1\text{ mmol/L}\leq\text{空腹血糖}<7.0\text{ mmol/L}$ 和(或) $7.8\leq\text{糖负荷}2\text{ h后血糖}<11.1\text{ mmol/L}$ 和(或) $5.7\%\leq\text{糖化血红蛋白}<6.5\%$ ^[6-7]。目前认为胰岛 β 细胞功能障碍是糖尿病前期发生发展的关键^[8],其机制主要涉及 β 细胞内质网应激引起 β 细胞向衰老及功能丧失表型转化^[9-10]。糖尿病前期临床主要沿用二甲双胍等糖尿病阶段的治疗药物^[11-12],缺乏针对此阶段的公认可靠的一线用药。

针灸科学研究联盟在2025年发布“针灸科学研究行动计划”指出:聚焦神经-内分泌-免疫-代谢相互作用网络以探索针灸调控的系统生物学规律,全链条解析针灸的调控特征^[13]。针刺在改善糖尿病等代谢疾病的临床症状及并发症方面具有明显疗效,安全性高且不良反应小^[14]。针刺可通过刺激穴位调节神经内分泌系统和免疫系统,影响血糖稳态和胰岛素敏感性^[15-17]。针灸治疗糖尿病前期的临床文献计量分析显示,足三里为49个腧穴中使用频次最高的腧穴^[18-19],也是《2型糖尿病中西医结合诊疗指南》中的推荐腧穴^[20]。目前研究表明,电刺激“足三里”可激活自主神经通路改善肥胖模型大鼠血糖^[21],改善即刻高糖下大鼠血糖^[22]。电针“足三里”还可以通过激活孤束核-迷走神经改善糖尿病胃动力障碍^[23-24]。但电针“足三里”激活迷走神经传出对胰岛 β 细胞的作用及机制尚不明确。本研究以急性高糖、低风险糖尿病前期、高风险糖尿病前期模型观察电针“足三里”对血糖的改善作用,在明确优势效应阶段基础上,初步探索电针“足三里”

改善内质网应激进而改善胰岛 β 细胞功能的自主神经机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

清洁级C57BL/6J雄性小鼠54只,8周龄,体重24~26 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(京)2021-0006,饲养于中国中医科学院针灸研究所动物房,温度20~24℃,相对湿度(55±2)%,12 h/12 h昼夜交替照明并适应性饲养1周。在急性高糖实验中,随机选取6只小鼠作为正常组,其余以腹腔注射葡萄糖溶液进行造模,注射结束后将模型小鼠随机分为模型组、电针组,每组6只。在低风险糖尿病前期实验中,随机选取30只鼠作为正常组,其余小鼠进行高脂喂养,造模4 d血糖达标后将模型小鼠随机分为模型组、电针组,每组30只。在高风险糖尿病前期实验中,随机选取6只鼠作为正常组,其余进行高脂喂养,造模4周血糖达标后将模型小鼠随机分为模型组、电针组,每组6只。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》,并经中国中医科学院针灸研究所伦理委员会审查通过(伦理批号为Y2025-3-12-01)。

1.2 主要仪器与试剂

异氟烷(中国鲁南贝特),驴血清、苏木精-伊红染色试剂盒、RIPA快速裂解液(北京索莱宝),TritonX-100(美国Sigma),4%多聚甲醛(天津华东),糖化血红蛋白试剂盒、M3-AchR抗体(英国Abcam),胰岛素试剂盒、胰高血糖素试剂盒及c-fos、ChAT抗体(德国Merck),RNA提取试剂盒、实时荧光定量PCR试剂盒(南京诺唯赞),胶原酶P(瑞士Roche),CTB Alexa Fluor 647逆向示踪病毒、激活转录因子6(ATF6)抗体(美国Thermo Fisher),内质网核心信号1(ERN1)、P21、真核翻译起始因子

2 α 激酶3(EIF2AK3)、 β -actin抗体(美国Proteintech), Insulin抗体(武汉赛维尔), M2-AchR抗体(美国Santa Cruz)。

针灸针(0.18 mm \times 13 mm,北京中研太和),电刺激器(德国Multi-Channel Systems),全光谱扫描共聚焦显微镜(日本Nikon),冰冻切片机(德国Leica),全自动多功能全景组织细胞扫描分析系统(日本Olympus),离心机(德国Eppendorf),蛋白免疫印迹电泳系统、全自动凝胶成像仪(美国Bio-Rad),血糖仪及检测试纸(美国强生),酶标仪(美国Molecular Devices)。

1.3 模型制备

结合文献及前期预实验建立急性高糖模型:模型组、电针组小鼠给予腹腔注射2 g/kg葡萄糖溶液,注射后15 min血糖达16.7 mmol/L为造模成功标准^[25-26]。结合文献及前期预实验建立低风险糖尿病前期模型:模型组、电针组小鼠给予高脂饲料喂养1周,每日上午检测血糖,最后1 d上午检测糖耐量。高风险糖尿病前期模型:给予模型组、电针组小鼠高脂饲料喂养8周,每周日早上检测血糖,最后1周的周日检测口服糖耐量。低、高风险糖尿病前期模型均以6.1 mmol/L \leq 血糖 $<$ 7.0 mmol/L和(或)7.8 mmol/L \leq 口服糖耐量 $<$ 11.1 mmol/L和(或)5.7% \leq 糖化血红蛋白 $<$ 6.5%为造模成功的标准^[7,27]。

1.4 电针干预方法

取穴操作:在小动物专用吸入麻醉机下小鼠经4%异氟烷(0.6 L/min)诱导麻醉后,以1%异氟烷(0.6 L/min)维持麻醉。小鼠呼吸平稳,用手捏压小鼠脚爪或尾巴若无反应则表示麻醉完成。按照《实验针灸学》^[28]中的取穴方法定位双侧“足三里”。采用一次性无菌针灸针,分别直刺小鼠双侧“足三里”,深度3 mm,分别连接电针仪正负极,电针参数^[29]:强度1 mA,频率10 Hz,波宽0.5 ms,每次15 min。

急性高糖实验中电针组小鼠在腹腔注射2 g/kg葡萄糖溶液后立即给予电针干预;低风险糖尿病前期实验中电针组小鼠在造模第4、5、6、7天给予电针干预,每日上午1次;高风险糖尿病前期实验中电针组小鼠在造模第5、6、7、8周的周一、周四、周日给予电针干预,3次/周,共电针12次。各部分实验中正常组、模型组仅采用相同的麻醉方法,不进行其他任何干预。

1.5 观察指标及检测方法

血糖仪检测小鼠血糖:将小鼠固定在倒扣的烧杯中,留出尾巴,用酒精棉片擦拭消毒小鼠尾巴,用采血针轻刺尾静脉至有血滴出现,用酒精棉片擦去首滴血液后沿尾静脉轻轻挤压至出现第2滴血样,将血样滴入血糖仪的血糖试纸采血条中,等待3~5 s后记录血糖仪上的读值。急性高糖实验中,在实验开始前记录各组小鼠血糖作为0 min时点血糖值,随后进行葡萄糖注射(需15 min)后记录小鼠血糖值作为15 min时点血糖值,进行电针干预(需15 min)后立即记录小鼠血糖值作为30 min时点血糖值,30 min后记录血糖作为60 min时点血糖值,60 min后记录血糖作为120 min时点血糖值。低风险糖尿病前期实验中,在实验开始前记录各组小鼠血糖作为基础血糖值,随后在每天上午检测血糖,其中第4、5、6、7天于电针结束后立即检测。高风险糖尿病前期实验:在实验开始前记录各组小鼠血糖作为基础血糖值,随后在每周日上午检测血糖,其中第5、6、7、8周的周日于电针结束后检测。

小鼠糖耐量检测:分别在低风险糖尿病前期实验中第7天电针结束、高风险糖尿病前期实验中第8周周日电针结束后,对小鼠进行禁食6 h处理,检测其血糖作为0 min血糖值,随后给予小鼠腹腔注射5 g/kg葡萄糖溶液,在注射后15、30、60、90、120 min检测血糖,正常组和模型组采用相同的方式麻醉后进行相同操作并在相同时间点检测血糖。

酶联免疫吸附法测定血清糖化血红蛋白、胰高血糖素、胰岛素含量:急性高糖、低风险糖尿病前期和高风险糖尿病前期实验电针结束后取材,采用负压抽血管从小鼠腹主动脉取血后,6 000 \times g离心10 min获得血清。按照试剂盒说明书,分别在试剂盒中预包被了糖化血红蛋白抗体、胰高血糖素抗体及胰岛素抗体的96孔板底加入血清样品,覆上板膜后在37 $^{\circ}$ C孵育2 h后,清洗液洗板3次,每次3 min,加入反应液100 μ L/孔,在37 $^{\circ}$ C孵育1 h,清洗液洗板3次,每次3 min,加入显色液100 μ L/孔后立刻于酶标仪405 nm波长下读值。根据标准曲线分别计算血清糖化血红蛋白、胰高血糖素及胰岛素的含量。

HE染色法观察小鼠胰腺组织病理变化:在急性高糖、低风险糖尿病前期、高风险糖尿病前期实验电针结束后15 min将小鼠处死,取胰腺组织固定于4%多聚甲醛中24 h后经过脱水、石蜡包埋、切片(5 μ m),分别通过苏木精、伊红染色后在光学显

显微镜下观察胰腺组织病理变化。

免疫荧光染色法检测胰腺组织胰岛 β 细胞中衰老标志物P21、胰内神经节及迷走神经背核(DMV)中支配胰腺的ChAT⁺神经元中c-fos阳性表达:在低风险糖尿病前期实验第1天,通过异氟烷麻醉小鼠后腹部剃毛,剪开腹腔暴露胰腺组织,通过玻璃微电极注射泵进行5~10个点注射CTB Alexa Fluor 647 逆向示踪病毒^[32],每个点注射300 nL。第7天小鼠电针结束后用4%多聚甲醛心脏灌注固定,灌注结束后分别取胰腺组织、胰内神经节、DMV相应的脑干部位固定2 h,置于25%蔗糖溶液中4℃冰箱脱水24 h,待组织沉底后用OCT包埋组织,通过冰冻切片机制片,厚度30 μ m。将组织切片清洗后置于封闭液(3%驴血清、0.5% TritonX-100、0.1 mol/L PBS)中封闭45 min。在胰腺组织切片中加入Insulin和P21一抗(1:1 000),在胰内神经节和DMV切片中加入ChAT(1:100)和c-fos(1:1 000)一抗,置于4℃摇床中孵育过夜后,用0.1 mol/L PBS清洗3次,再分别加入相应二抗(Alexa Flour 488、Alexa Flour 594 荧光素二抗1:1 000)室温孵育1 h,使用50%甘油封片,在全光谱扫描共聚焦显微镜下观察和拍照,用Adobe Illustrator进行图片标注。分别以同时表达ChAT/c-fos和CTB647的位置作为DMV中阳性表达,以同时表达ChAT/c-fos的位置作为胰内神经节中阳性表达,以同时表达Insulin和P21的细胞作为胰腺组织中阳性表达。

分离胰岛 β 细胞并使用PCR法检测胰岛 β 细胞标志物胰十二指肠同源框因子-1(PDX-1)、 β 细胞特异性转录因子(MAFA)、叉头盒O1(FOXO1):低风险糖尿病前期实验电针结束后将小鼠处死并快速打开腹腔,将胰腺从小鼠腹腔分离出来,放入装有2 mL 胶原酶P的50 mL离心管,在37℃水浴振荡28 min使组织充分消化。把离心管置于涡旋仪上振摇,加入15 mL的HBSS缓冲液终止消化。将悬液以1 500 \times g离心10 min后弃去上层液体、保留下层糜状物,加入15 mL HBSS重悬为混悬液。另取50 mL离心管在底部加入15 mL 50%的Percoll溶液,轻轻地在上层加入15 mL 25%的Percoll溶液,最后用移液管将混悬液缓慢加到最上层,以900 \times g速度离心30 min。离心结束后胰岛 β 细胞沉降在Percoll溶液中间层,细胞碎片会分散在Percoll溶液中或沉降在底部^[30-31],小心吸取中间层的液体转移至2个1.5 mL离心管中离心,弃上层液体,留取沉淀物分为两份。取其中一份沉淀物用试剂盒提取RNA,将提取的

RNA反转录为cDNA后进行PCR扩增,扩增体系:95℃,10 min;95℃,15 s,随后60℃,30 s,共40个循环。以HPRT1为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标mRNA的相对表达量。引物序列及产物长度为:PDX-1(上游TGATGGGTGTGAACCACGAG,下游AGTGATGGCATGGACTGTGG,124 bp)、MAFA(上游TTTCTTCCCCTTCGACCAGC,下游CCATCTGCTCCAGGTCGATC,113 bp)、FOXO1(上游GACTGGGAGTCGACGTTGTT,下游TGTCTGAGCAGAAGTGGCTG,136 bp)。

Western blot法检测胰岛细胞中内质网应激指标(ATF6、ERN1、EIF2AK3)、衰老指标P21、乙酰胆碱受体(M2-AchR、M3-AchR)蛋白表达水平:将低风险糖尿病实验另一份细胞沉淀物加入200 μ L预冷的RIPA溶液,提取蛋白样品,采用BCA法测定蛋白质浓度。制备10%的SDS-PAGE凝胶,蛋白样品与上样缓冲液预混并在100℃加热变性15 min。将蛋白样品以80 V电压电泳50 min后将分离的蛋白条带以电流320 mA转印至PVDF膜,转膜后置于5%脱脂奶粉中,室温封闭1 h, TBST缓冲液洗涤后加入ATF6、ERN1、EIF2AK3、P21、M2-AchR、M3-AchR一抗(1:1 000)和内参蛋白 β -actin(1:1 000),4℃孵育过夜。TBST洗涤后加入相应二抗(1:2 000),室温孵育1 h后,以TBST漂洗3次,用ECL发光法显示目标条带,用Quantity One分析条带灰度值。以目标蛋白条带与内参蛋白条带灰度值的比值作为目标蛋白的相对表达量。

1.6 统计学分析

采用SPSS27.0软件进行数据分析,GraphPad Prism作图。计量资料通过正态性检验,以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间比较用单因素方差分析,进一步两两比较,方差齐则采用LSD检验,方差不齐则采用Dunnett's *t*3法。以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 电针对急性高糖、低风险糖尿病前期、高风险糖尿病前期血糖的影响

急性高糖实验中,造模后15 min小鼠血糖 > 16.7 mmol/L,与正常组相比升高($P<0.001$),已达急性高糖范围,在30~120 min逐渐降低;电针组小鼠在15、30、60 min较模型组血糖均降低($P<0.01$)。低风险糖尿病前期实验中,模型组造模3 d血糖与正常组相比升高,已达糖尿病前期IFG标准

($P < 0.001$), 且这种差异可持续至观察结束(1周); 电针组在第4、6、7天较模型组降低($P < 0.001, P < 0.01$)。高风险糖尿病前期实验中, 造模1周血糖与正常组相比升高($P < 0.001$), 已达糖尿病前期 IFG 标准, 且这种差异可持续至观察结束(8周); 电针组小鼠在第5、6周较模型组降低($P < 0.01, P < 0.05$)。见图1。

2.2 电针对小鼠糖耐量的影响

低风险糖尿病前期实验中, 模型组小鼠15、30、60、120 min 血糖较正常组升高($P < 0.05, P < 0.01$), 120 min 血糖已达糖尿病前期 IGT 标准; 电针组小鼠15、30、60、120 min 血糖较模型组降低($P < 0.05,$

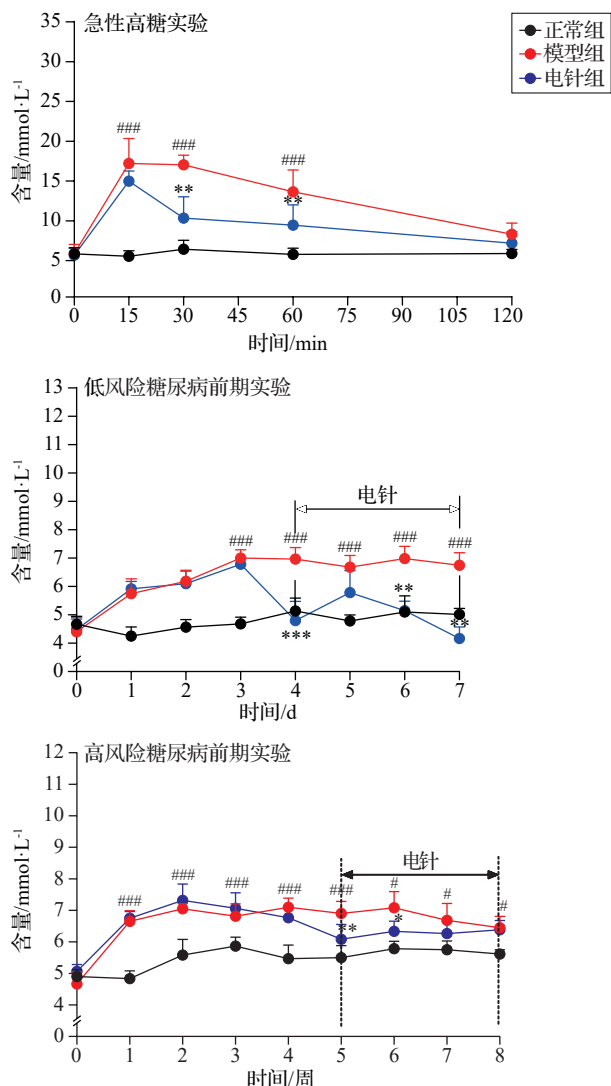
$P < 0.01$), 120 min 血糖已恢复至非受损范围。高风险糖尿病前期实验中, 模型组小鼠15、30、60、120 min 血糖较正常组升高($P < 0.05, P < 0.01$), 120 min 血糖已达糖尿病前期 IGT 标准; 电针组小鼠各时点血糖较模型组有降低趋势, 但差异无统计学意义。见图2。

2.3 电针对低风险糖尿病前期、高风险糖尿病前期小鼠血清糖化血红蛋白的影响

低风险糖尿病前期实验中, 模型组与正常组, 以及电针组与模型组之间的血清糖化血红蛋白含量差异均无统计学意义。高风险糖尿病前期实验中, 模型组血清糖化血红蛋白含量较正常组升高($P < 0.05$), 已达糖尿病前期糖化血红蛋白标准(5.7%~6.5%), 电针组较模型组有降低趋势, 但差异无统计学意义。见图3。

2.4 电针对急性高糖、低风险糖尿病前期、高风险糖尿病前期小鼠胰腺病理形态的影响

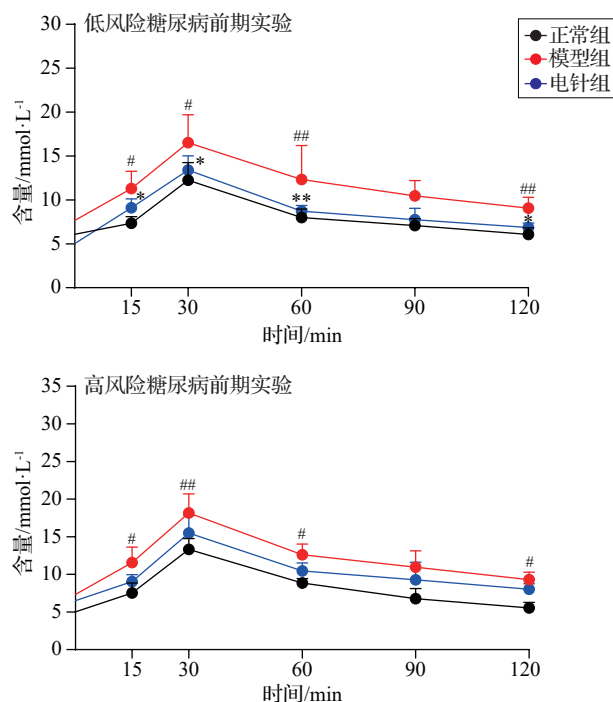
胰腺组织 HE 染色显示, 急性高糖实验中, 正常组、模型组、电针组小鼠胰腺组织中胰岛形态完整, 未见明显形态变化; 低风险糖尿病前期实验中, 正常组、模型组、电针组小鼠胰腺组织中也未见胰



注: 与同时点正常组比较, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$; 与同时点模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。糖尿病前期空腹血糖受损判定标准为 $6.1 \text{ mmol/L} \leq \text{血糖} < 7.0 \text{ mmol/L}$ 。

图1 各组小鼠血糖曲线比较($\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)

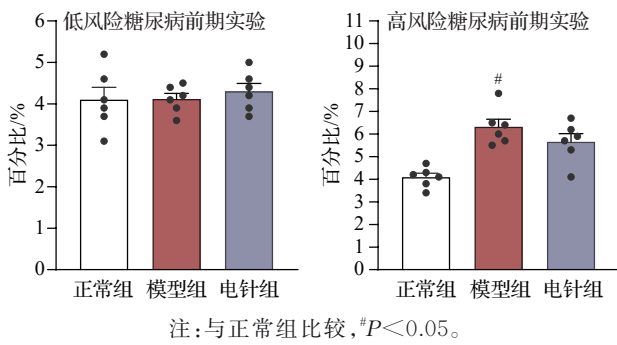
Fig. 1 Comparison of blood glucose curve of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)



注: 与同时点正常组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与同时点模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。糖尿病前期糖耐量受损判定标准为 $7.8 \text{ mmol/L} \leq \text{糖负荷} 2 \text{ h 血糖} < 11.1 \text{ mmol/L}$ 。

图2 各组小鼠糖耐量曲线比较($\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 2 Comparison of glucose tolerance curve of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)



注:与正常组比较,# $P < 0.05$ 。
图3 各组小鼠血清糖化血红蛋白含量比较($\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)
Fig. 3 Comparison of serum contents of HbA1c of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)

岛形态病理改变;高风险糖尿病前期实验中,正常组小鼠胰岛结构完整、形态规整,模型组小鼠胰岛体积增大,电针组小鼠的胰岛体积仅略有增大。见图4。

2.5 电针对急性高糖、低风险糖尿病前期、高风险糖尿病前期小鼠血清胰岛素、胰高血糖素的影响

急性高糖实验中,模型组小鼠血清胰岛素含量较正常组增加($P < 0.05$),血清胰高血糖素较正常组有降低趋势但差异无统计学意义;电针组小鼠血清胰岛素含量较模型组显著增加($P < 0.05$),血清胰高血糖素较模型组有升高趋势但差异无统计学意义。低风险糖尿病前期实验中,模型组小鼠血清胰岛素含量及血清胰高血糖素较正常组有升高趋势但差异无统计学意义;电针组小鼠血清胰岛素含量较模

型组升高($P < 0.05$),血清胰高血糖素较模型组有降低趋势但差异无统计学意义。高风险糖尿病前期实验中,模型组小鼠血清胰岛素含量较正常组增加($P < 0.01$),胰高血糖素含量较正常组降低($P < 0.05$);电针组小鼠血清胰岛素含量、血清胰高血糖素含量较模型组均降低($P < 0.01, P < 0.05$)。见图5。

2.6 电针对低风险糖尿病前期小鼠DMV中ChAT⁺神经元激活情况的影响

c-fos可作为神经元活动的标志物,胰腺注射CTB647可逆向示踪到支配胰腺的神经元,c-fos⁺/CTB647/ChAT⁺共标神经元数量可反映支配胰腺的ChAT神经元的激活情况。与正常组相比,模型组c-fos⁺/CTB647/ChAT⁺共标神经元数量差异无统计学意义。与模型组相比,电针组小鼠DMV中c-fos⁺/CTB647/ChAT⁺共标神经元数量增多($P < 0.01$)。见图6。

2.7 电针对低风险糖尿病前期小鼠胰内神经节中ChAT⁺神经元激活情况的影响

c-fos⁺/ChAT⁺神经元共标可反映胰内神经节中ChAT神经元的激活情况。模型组与正常组胰内神经节中c-fos⁺/ChAT⁺共标神经元激活数量差异无统计学意义。与模型组相比,电针组小鼠胰内神经节中c-fos⁺/ChAT⁺共标神经元的激活数量明显增多($P < 0.05$)。见图7。

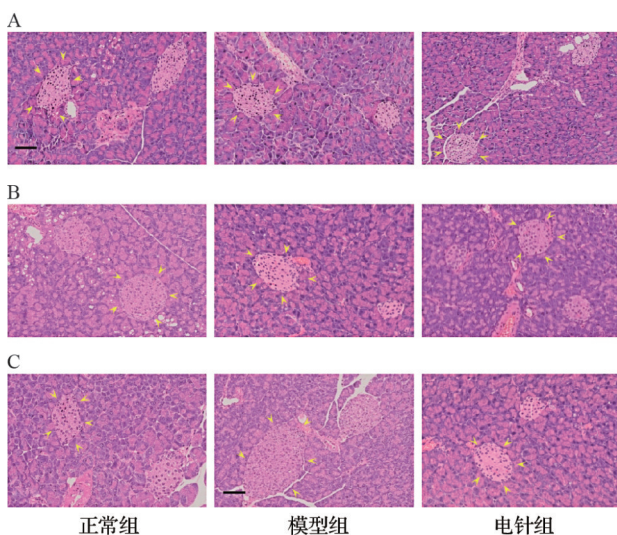
2.8 电针对低风险糖尿病前期小鼠胰岛β细胞标志物PDX-1、MAFA、FOXO1 mRNA及乙酰胆碱受体蛋白表达水平的影响

PDX-1、MAFA、FOXO1是胰岛β细胞标志物,可用于鉴定提取到的胰岛β细胞。正常组、模型组、电针组提取的胰岛β细胞中均有PDX-1、MAFA、FOXO1表达。见图8。

与正常组相比,模型组胰岛β细胞中M2-AchR和M3-AchR蛋白表达水平降低($P < 0.05$);与模型组相比,电针组胰岛β细胞中M2-AchR和M3-AchR蛋白表达水平升高($P < 0.01, P < 0.05$)。见图9。

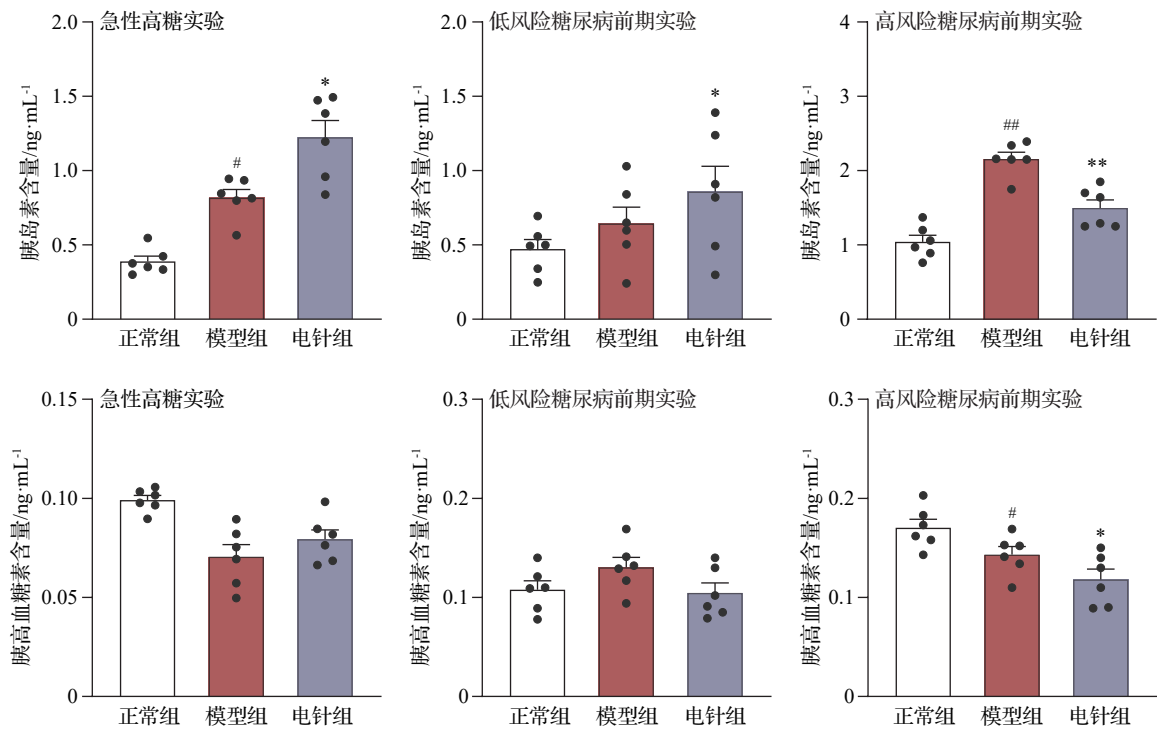
2.9 电针对低风险糖尿病前期小鼠胰岛β细胞内质网应激标志物ATF6、ERN1、EIF2AK3的影响

与正常组相比,模型组胰岛β细胞中ATF6、ERN1、EIF2AK3蛋白表达水平升高($P < 0.01, P < 0.05$);与模型组相比,电针组胰岛β细胞中ATF6、ERN1、EIF2AK3蛋白表达水平降低($P < 0.01, P < 0.05$)。见图10。



注:A为急性高糖实验,B为低风险糖尿病前期实验,C为高风险糖尿病前期实验。黄色箭头所示为胰岛,标尺=50 μm。

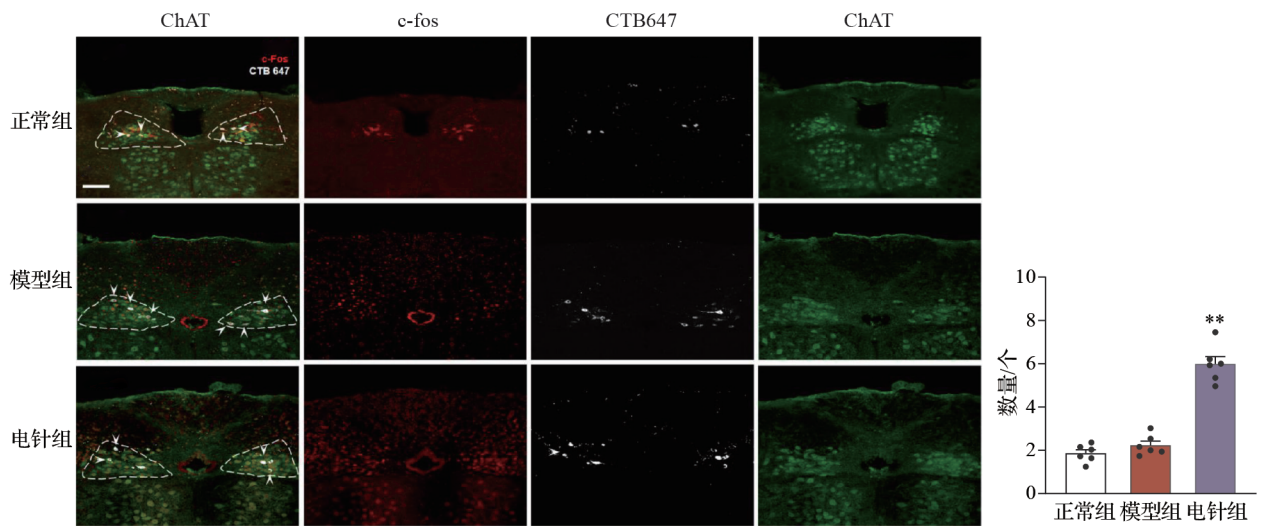
图4 各组小鼠胰腺组织形态比较
Fig. 4 Comparison of pancreas histological alterations of mice in the 3 groups



注:与同时点正常组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与同时点模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图5 各组小鼠血清胰岛素和胰高血糖素比较($\bar{x}\pm s$,6只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of levels of insulin and glucagon in serum of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 mice/group)



注:DMV为迷走神经背核。白色箭头表示ChAT⁺/c-fos⁺和CTB647共表达神经元,标尺=50 μm。与模型组比较,** $P<0.01$ 。

图6 各组小鼠DMV中CTB647/ChAT⁺/c-fos⁺三标神经元数量比较(免疫荧光染色, $\bar{x}\pm s$,6只鼠/组)

Fig. 6 Comparison of CTB647/ChAT⁺/c-fos⁺ co-labeled neurons in DMV of mice in the 3 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x}\pm s$, 6 mice/group)

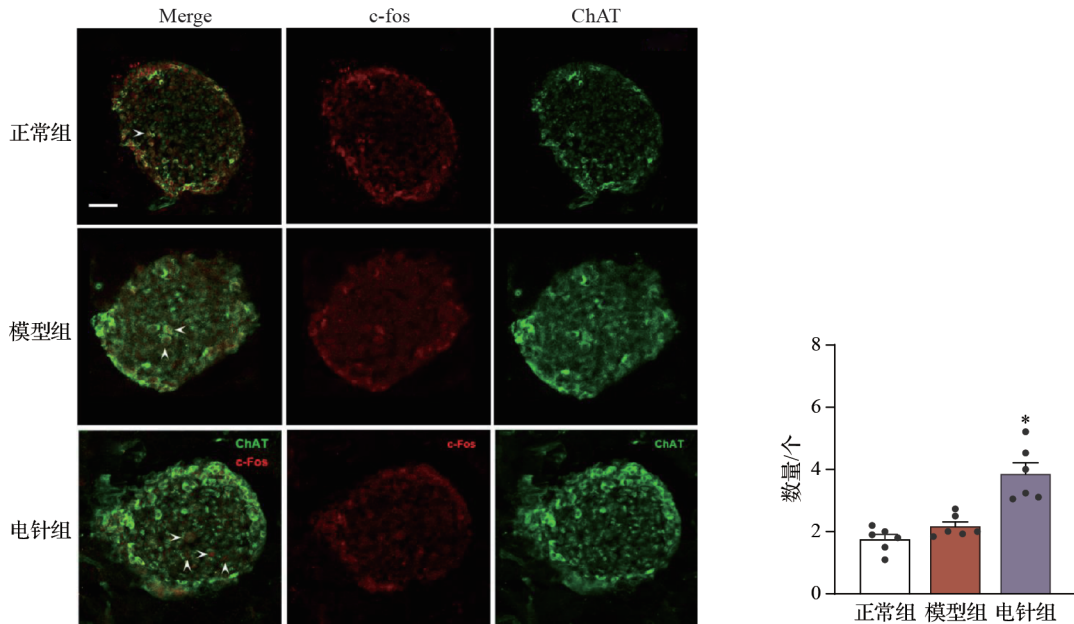
2.10 电针对低风险糖尿病前期小鼠胰岛β细胞衰老的影响

P21是衰老指标,用于评价各组小鼠胰岛β细胞衰老。与正常组相比,模型组胰岛β细胞中P21蛋白表达显著增加($P<0.01$);与模型组相比,电针组胰岛β细胞中P21蛋白表达显著降低($P<0.05$)。

见图11。

免疫荧光染色显示,小鼠胰腺组织中有大量Insulin标记的胰岛β细胞(绿色),Insulin⁺/P21⁺细胞共标可反映衰老胰岛β细胞数量。模型组胰腺组织中Insulin⁺/P21⁺细胞数量较正常组增加($P<0.01$),电针组胰腺组织中Insulin⁺/P21⁺细胞数量较

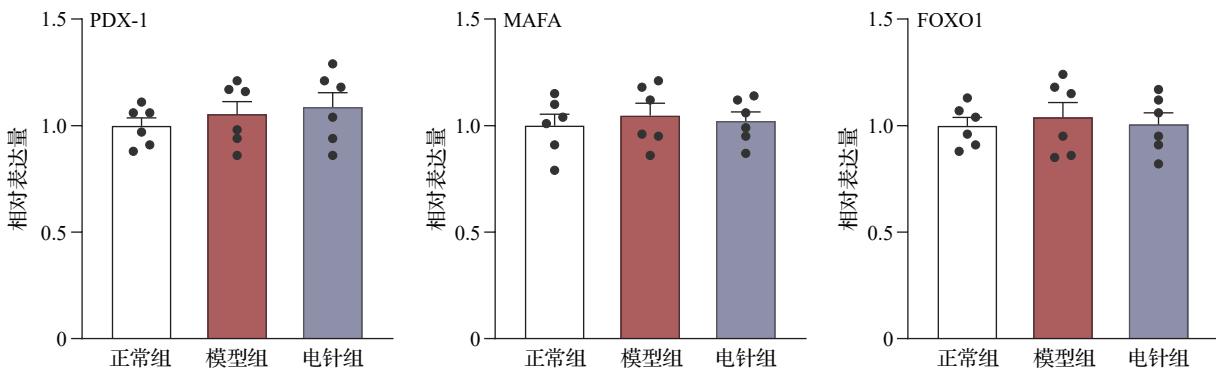
模型组减少($P < 0.01$)。见图12。



注:白色箭头表示 ChAT⁺和 c-fos⁺共表达神经元,标尺=50 μm。与模型组比较,* $P < 0.05$ 。

图7 各组小鼠胰内神经节中 ChAT⁺/c-fos⁺双标神经元数量比较(免疫荧光染色, $\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 7 Comparison of ChAT⁺/c-fos⁺ co-labeled neurons in IPG of mice in the 3 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)



注:PDX-1为胰十二指肠同源框因子-1,MAFA为β细胞特异性转录因子,FOXO1为叉头盒O1。

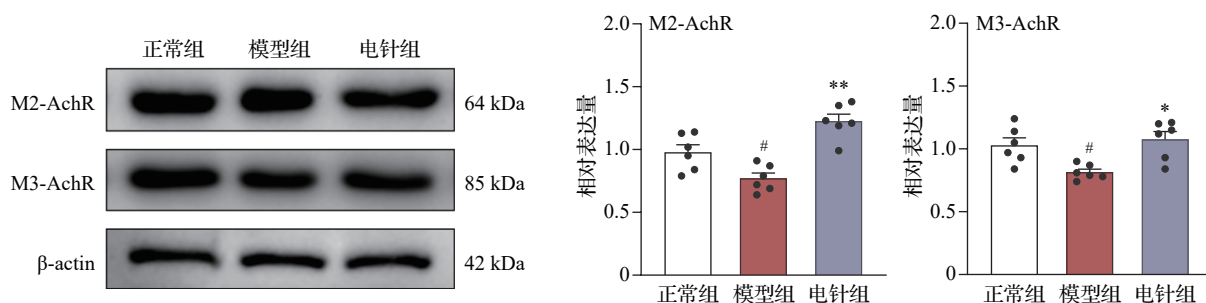
图8 各组小鼠胰岛β细胞 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 8 Comparison of mRNA expression levels of PDX-1, MAFA, FOXO1 in pancreatic beta-cells of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)

3 讨论

糖尿病前期是糖尿病发生前的高风险状态,也是实施干预措施降低糖尿病风险的关键时期。糖尿病前期的临床特征包括IFG和(或)IGT。2023年版《糖尿病前期干预专家共识》中新增了糖化血红蛋白指标,诊断标准为 $6.1 \text{ mmol/L} \leq \text{空腹血糖} < 7.0 \text{ mmol/L}$ 和(或) $7.8 \leq \text{糖耐量} < 11.1 \text{ mmol/L}$ 和(或) $5.7\% \leq \text{糖化血红蛋白} < 6.5\%$ ^[6-7]。专家共识中对糖尿病前期人群的风险进行阶段分层,按照风险

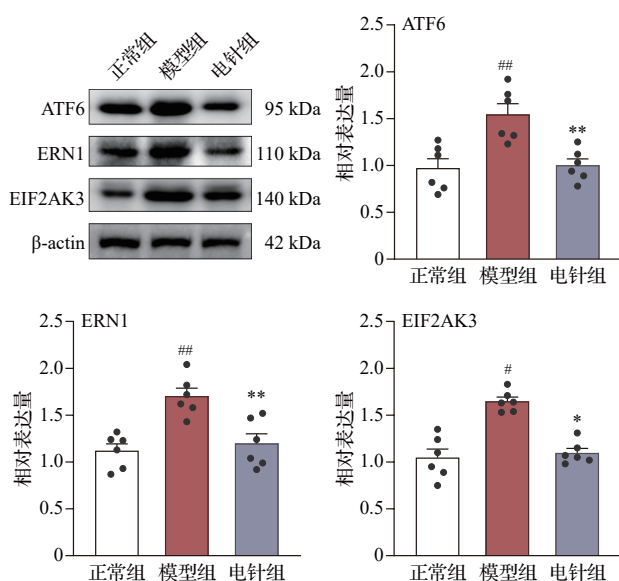
由低到高排序为:单纯IFG或IGT < IFG和IGT < 单纯糖化血红蛋白高于6% < 糖化血红蛋白高于6%和IFG和/或IGT^[7]。结合既往研究及预实验结果,本研究以血糖、糖耐量及糖化血红蛋白诊断指标为造模标准,通过高脂喂养构建糖尿病前期模型,结果显示,在血糖指标中高脂饲料喂养3 d血糖已达 $(7.01 \pm 0.72) \text{ mmol/L}$,且在此之后的1周到8周血糖仍处于IFG($6.1 \text{ mmol/L} \sim 7.0 \text{ mmol/L}$)的范围;在糖耐量指标中高脂饲料喂养1周和8周的糖



注:M2-AchR为乙酰胆碱受体M2,M3-AchR为乙酰胆碱受体M3。与正常组比较,# $P<0.05$;
与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图9 各组小鼠胰岛β细胞M2-AchR、M3-AchR蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$,6只鼠/组)

Fig. 9 Comparison of protein expression levels of M2-AchR and M3-AchR in pancreatic beta-cells of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 mice/group)



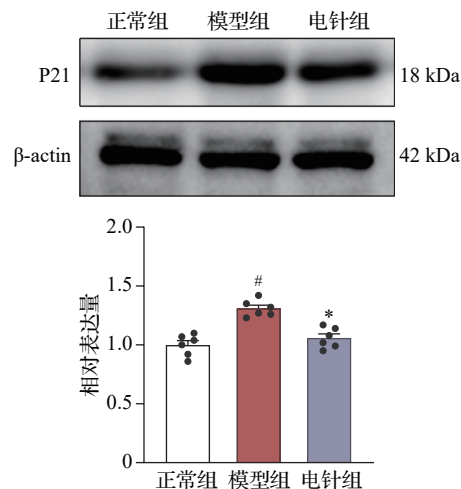
注:ATF6为激活转录因子6,ERN1为内质网核心信号1,EIF2AK3为真核翻译起始因子2 α 激酶3。与正常组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图10 各组小鼠胰岛β细胞ATF6、ERN1、EIF2AK3蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$,6只鼠/组)

Fig. 10 Comparison of expression levels of ATF6、ERN1、EIF2AK3 protein in pancreatic beta-cells of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 mice/group)

耐量分别为(9.07±1.22) mmol/L、(9.30±0.99) mmol/L,均处于IGT(7.8 mmol/L~11.1 mmol/L)范围;在糖化血红蛋白指标中高脂饲料喂养1周和8周分别为4.11%和6.31%,高脂饲料喂养1周末达糖尿病前期(5.7%~6.5%)范围,而高脂饲料喂养8周已达到此范围。由此可见,本研究采用高脂1周和高脂8周动物模型较好地模拟了低风险和高风险糖尿病前期病理状态。

针刺在改善糖尿病并发症方面具有良好的临



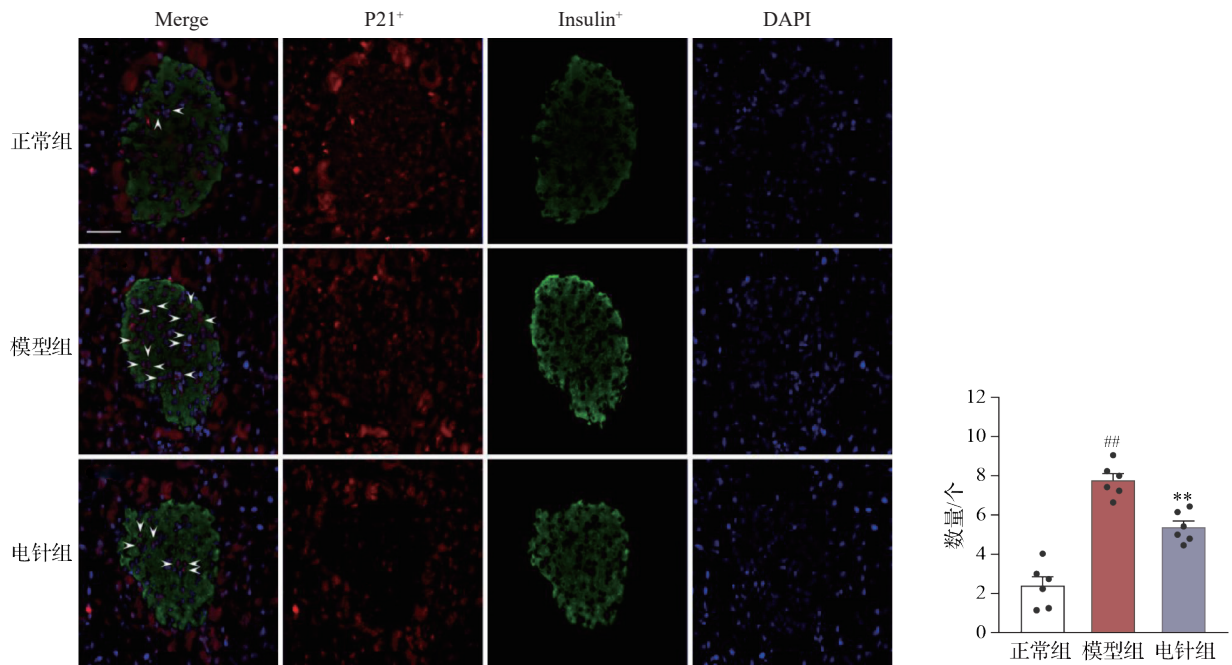
注:与正常组比较,# $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$ 。

图11 各组小鼠胰岛β细胞P21蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$,6只鼠/组)

Fig. 11 Comparison of expression levels of P21 protein in pancreatic beta-cells of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 mice/group)

床疗效^[23-24],例如能在糖尿病前期发挥降低血糖的效应,对预防糖尿病前期向糖尿病发展具有重要意义。电针足三里在糖尿病相关代谢疾病中具有广泛的临床应用^[22-24, 33],是《2型糖尿病的中西医结合治疗指南》中的推荐腧穴^[20]。在针灸治疗糖尿病前期的49个腧穴中“足三里”是临床使用频次最高的腧穴^[17-18]。

本研究中采用的急性高糖模型(葡萄糖注射后15 min血糖达16.7 mmol/L)是考察降糖效应的常用手段^[25-26]。在本研究血糖指标的效应评价中,电针在低风险糖尿病前期小鼠中可发挥显著降糖效应,而在高风险糖尿病前期小鼠模型中第5周后电针组与模型组血糖值逐步接近,提示电针效应并不



注:各组小鼠胰腺组织 P21⁺(红色)、Insulin⁺(绿色)、DAPI(蓝色)的表达水平例图,P21 表达在细胞核中,Insulin 表达在细胞质中围绕细胞核分布,DAPI 表达在细胞核中,白色箭头指示同时表达 Insulin 和 P21 的细胞,标尺=50 μm。与正常组比较,##*P*<0.01;与模型组比较,***P*<0.01。

图 12 各组小鼠胰腺组织中 Insulin⁺/P21⁺ 双标胰岛 β 细胞数量比较(免疫荧光染色法, $\bar{x} \pm s$, 6 只鼠/组)
 Fig. 12 Comparison of Insulin⁺/P21⁺ co-labeled in pancreatic beta-cells of mice in the 3 groups (immunofluorescence, $\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)

理想,推测原因可能为长期高血糖状态下机体具有一定的自我修复倾向。相较于临床人体试验,动物实验样本量并不足够充足,因此仍需后续临床数据进一步评价针刺在此阶段干预的必要性与有效性。在糖耐量指标的效应评价中,电针在低风险糖尿病前期小鼠中发挥了显著的改善效应,而在高风险糖尿病前期模型中电针效应不理想,与电针在血糖指标中的作用一致,均需临床试验完善证据链以进一步评价针刺效应。糖化血红蛋白指标意义为反映过去 1~3 月内的变化情况^[34-35],因急性高糖模型实验时程较短未检测此指标,低风险糖尿病前期时各组小鼠糖化血红蛋白未发生明显变化,高风险糖尿病前期实验中模型组血清糖化血红蛋白升高,已达糖尿病前期标准,但电针对此的改善效应并不明显。随后对本研究同一动物模型中电针效应进行纵向分析,在急性高糖模型中,血糖在葡萄糖注射后(15 min 时点血糖值)即刻达到高糖标准(> 16.7 mmol/L),在电针干预后即刻降低(30 min 时点血糖值)并在随后的 30 min 及 60 min 持续降低(60 min 时点和 120 min 时点血糖值),此时胰岛素水平显著增加,且未见胰腺病理损伤,由此推测电针效应是否通过增加胰岛素含量以更快降低血糖;

在低风险糖尿病前期模型中,血糖和糖耐量均已达糖尿病前期标准,但此时未见胰岛素增加和胰腺病理损伤,对比急性高糖时胰岛素应激性增加,结果提示在低风险阶段中胰岛素分泌受阻,机体可能处于胰岛功能受损而尚未发展为形态病变的阶段。结合本研究结果中电针有效降低血糖和糖耐量并增加胰岛素含量,由此推测电针可能通过恢复胰岛功能缓解胰岛素分泌受阻。在本研究的高风险糖尿病前期模型中,血糖、糖耐量、糖化血红蛋白均已达糖尿病前期标准,且出现胰岛素含量升高,胰高血糖素含量降低,胰岛形态不规整的病理表现,对比低风险模型时胰岛素含量无明显变化,结果提示长期高血糖下已出现胰岛病理损伤,且代偿性释放的激素仍无法有效降低血糖,机体处于胰岛素抵抗和胰岛病理损伤阶段,在此状态下电针具有一定的降低血糖、糖耐量、糖化血红蛋白效应,但却无法使其恢复至正常范围。结合本研究结果中电针降低胰岛素和胰高血糖素水平缓解胰腺病理损伤的作用,由此推测电针可能通过改善胰腺损伤、缓解激素代偿性释放,增加胰岛素利用率来实现降低血糖效应,但作用效果并不十分理想。然而,由于本研究中低风险和高风险糖尿病前期实验中电针干预

的频率并不完全相同,因此无法得到电针的绝对优势效应阶段。本团队后续研究中将设置相同的电针干预频次,并在高脂喂养同一时程内给予电针干预后对比电针的最优效应阶段,以期以更完整的证据链进一步明确电针的最佳效应“时间窗”。

在血糖的激素调控中,迷走神经通过乙酰胆碱神经递质作用于胰岛 β 细胞表面乙酰胆碱受体进而支配 β 细胞^[36]。M2-AchR和M3-AchR是M2和M3型乙酰胆碱受体,用于评价胰岛 β 细胞中乙酰胆碱受体含量。胰岛 β 细胞是机体唯一产生降糖激素胰岛素的细胞类型,且占胰岛内细胞总数的70%^[37]。既往研究表明,刺激迷走神经可增加胰岛素分泌,促进胰岛 β 细胞增殖和胰岛素释放^[38-40]。DMV是迷走神经传出纤维发挥作用的初级中枢,研究表明电针“足三里”可激活DMV迷走神经传出发挥效应^[41-43]。在本研究中,电针“足三里”可增加DMV、胰内神经节中支配胰腺的ChAT⁺/c-fos⁺神经元数量,增加 β 细胞中乙酰胆碱受体,提示电针“足三里”可显著激活迷走传出神经以支配胰岛 β 细胞。

在胰岛素的合成过程中,血糖升高启动前胰岛素原蛋白分子进入内质网中经氧化、折叠后形成胰岛素分子后从 β 细胞中转运至循环系统中发挥降血糖效应^[44]。然而,急性高糖或持续高血糖引起胰岛素高速合成需求导致未及及时折叠或错误折叠的胰岛素前体分子在内质网中堆积,最终导致内质网应激而胰岛素分泌不足^[45-47]。持续的内质网应激引起胰岛 β 细胞抗氧化能力减弱和分泌功能障碍,导致 β 细胞走向衰老继而发展为不可逆转的糖尿病阶段^[48]。因此,针刺如能在内质网应激和仅出现衰老表型的阶段发挥逆转作用,则对改善胰岛 β 细胞功能具有重要的意义。在本研究低风险糖尿病前期实验中,以胰岛 β 细胞中内质网应激标志物ATF6、ERN1、EIF2AK3和衰老表型标志物P21为检测指标观察电针效应机制,结果显示电针组小鼠胰岛 β 细胞中ATF6、ERN1、EIF2AK3含量降低,胰腺组织中Insulin⁺/P21⁺细胞数量减少,即表明小鼠处于衰老状态的 β 细胞数量降低,提示电针“足三里”可通过缓解内质网应激及胰岛 β 细胞向衰老表型转化来发挥改善糖尿病前期的效应。

综上,区别于既往电针“足三里”在糖尿病中的应用,本研究聚焦在糖尿病前期这一关键时期。研究结果初步明确了电针的优效阶段为糖尿病前期的低风险状态,其机制可能是电针激活系统性迷走神经,作用于胰岛 β 细胞,进而通过改善胰岛 β 细胞

内质网应激和减少胰岛 β 细胞衰老来发挥改善糖尿病前期的效应。该研究为针灸在糖尿病前期的应用提供了一定的科学证据,为针灸研究从基础向临床转化提供了思路参考。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。作者景向红为本刊编委,但未参与本文的审理。

参考文献

- [1] SINGH A, SHADANGI S, GUPTA P K, et al. Type 2 diabetes mellitus: a comprehensive review of pathophysiology, comorbidities, and emerging therapies [J]. *Compr Physiol*, 2025, 15(1): e70003.
- [2] BACHA F, HANNON T S, TOSUR M, et al. Pathophysiology and treatment of prediabetes and type 2 diabetes in youth [J]. *Diabetes Care*, 2024, 47(12): 2038-2049.
- [3] ZAHALKA S J, GALINDO R J, SHAH V N, et al. Continuous glucose monitoring for prediabetes: what are the best metrics? [J]. *J Diabetes Sci Technol*, 2024, 18(4): 835-846.
- [4] ROONEY M R, FANG M, OGURTSOVA K, et al. Global prevalence of prediabetes [J]. *Diabetes Care*, 2023, 46(7): 1388-1394.
- [5] 唐硕, 纪朋成, 孙祎梦, 等. 超重/肥胖糖尿病前期患者的证素分布特点及其与客观指标的关系 [J]. *中医学报*, 2020, 35(11): 2439-2445.
TANG S, JI P C, SUN Y M, et al. Distribution characteristics of syndrome elements in overweight/obese prediabetic patients and its relationship with objective indicators (in Chinese) [J]. *China Journal of Chinese Medicine*, 2020, 35(11): 2439-2445.
- [6] ELSAYED N A, ALEPPO G, ARODA V R, et al. 2. classification and diagnosis of diabetes: standards of care in diabetes: 2023 [J]. *Diabetes Care*, 2023, 46(Supplement_1): S19-S40.
- [7] 中华医学会内分泌学分会, 中华医学会糖尿病学分会, 中国医师协会内分泌代谢科医师分会. 《中国成人糖尿病前期干预的专家共识》(2023版) [J]. *中华糖尿病杂志*, 2023, 15(6): 484-494.
Chinese Society of Endocrinology, Chinese Diabetes Society, China Medical Doctor Association Endocrinology and Metabolism Branch. Intervention for adults with pre-diabetes: a Chinese expert consensus (2023 edition) [J]. *Chinese Journal of Diabetes Mellitus*, 2023, 15(6): 484-494.
- [8] WEIR G C, BONNER-WEIR S. Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes [J]. *Diabetes*, 2004, 53(Suppl 3): S16-S21.
- [9] YANG Y M, WANG B M, DONG H R, et al. The mitochondrial enzyme pyruvate carboxylase restricts pancreatic β -cell senescence by blocking p53 activation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121(44): e2401218121.
- [10] FONSECA S G, GROMADA J, URANO F. Endoplasmic

- reticulum stress and pancreatic β -cell death [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2011, 22(7): 266-274.
- [11] 留典淳, 陈晓莹, 王芊云, 等. 循证药理学视角下二甲双胍在糖尿病前期的临床实践及合理用药[J]. *中国全科医学*, 2025, 1-12.
LIU D C, CHEN X Y, WANG Q Y, et al. Clinical practice and rational drug use of metformin in prediabetes from the perspective of evidence-based pharmacy (in Chinese) [J]. *Chinese General Practice Medicine*, 2025, 1-12.
- [12] 高璞. 二甲双胍对糖尿病前期人群血清adropin水平及糖脂代谢的影响 [D], 石家庄: 河北医科大学, 2023.
GAO P. Effects of metformin on serum adropin level and glucose and lipid metabolism in the pre-diabetic population (in Chinese) [D], Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2023.
- [13] 针灸科学研究联盟. 针灸科学研究行动计划[J]. *针刺研究*, 2025, 50(1): 1-2.
Acupuncture Scientific Research Alliance. A plan for acupuncture-moxibustion scientific research (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(1): 1-2.
- [14] LI S Q, CHEN J R, LIU M L, et al. Effect and safety of acupuncture for type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of 21 randomised controlled trials [J]. *Chin J Integr Med*, 2022, 28(5): 463-471.
- [15] 陈俊陶, 陈天帷, 冯袁辉, 等. 针刺治疗 2 型糖尿病的 Meta 分析与 GRADE 证据评价 [J]. *中国临床研究*, 2023, 36(2): 303-310.
CHEN J T, CHEN T W, FENG Y H, et al. Meta-analysis and GRADE evidence evaluation of acupuncture in the treatment of type 2 diabetes mellitus (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Clinical Research*, 2023, 36(2): 303-310.
- [16] 陈俊陶, 陈天帷, 李瑞, 等. 针刺治疗 2 型糖尿病的取穴及配伍规律研究 [J]. *上海针灸杂志*, 2024, 43(12): 1410-1416.
CHEN J T, CHEN T W, LI R, et al. Acupuncture points and compatibility rules of acupuncture in the treatment of type 2 diabetes mellitus (in Chinese) [J]. *Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion*, 2024, 43(12): 1410-1416.
- [17] 张硕, 崔杨, 孙忠人, 等. 针刺治疗 II 型糖尿病效应机制研究进展 [J]. *针刺研究*, 2024, 49(6): 641-649.
ZHANG S, CUI Y, SUN Z R, et al. Research progress on the mechanism of acupuncture on type II diabetes mellitus (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(6): 641-649.
- [18] 王焱, 宋爱群, 梁凤霞. 针灸治疗糖尿病前期的选穴规律分析 [J]. *湖南中医杂志*, 2021, 37(1): 130-134.
WANG Y, SONG A Q, LIANG F X. Analysis of acupoint selection rules in the treatment of prediabetes with acupuncture (in Chinese) [J]. *Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 37(1): 130-134.
- [19] 黄湘茜, 梁凤霞, 陈丽, 等. 基于集合可视化分析系统探究针灸干预糖尿病前期的选穴规律 [J]. *湖北中医药大学学报*, 2022, 24(1): 121-125.
HUANG X X, LIANG F X, CHEN L, et al. Exploration on the acupoint selection rule for the treatment of pre-diabetes with acupuncture and moxibustion based on the set visualization analysis system (in Chinese) [J]. *Journal of Hubei University of Chinese Medicine*, 2022, 24(1): 121-125.
- [20] 全小林, 贾伟平, 王秀阁, 等. 2 型糖尿病中西医结合诊疗指南 [J]. *吉林中医药*, 2024, 44(10): 1117-1127.
TONG X L, JIA W P, WANG X G, et al. Guideline for diagnosis and treatment of type 2 diabetes mellitus with integrated Chinese and western medicine (in Chinese) [J]. *Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 44(10): 1117-1127.
- [21] LIU J M, JIN H F, FOREMAN R D, et al. Chronic electrical stimulation at acupoints reduces body weight and improves blood glucose in obese rats via autonomic pathway [J]. *Obes Surg*, 2015, 25(7): 1209-1216.
- [22] LIN R T, CHEN C Y, TZENG C Y, et al. Electroacupuncture improves glucose tolerance through cholinergic nerve and nitric oxide synthase effects in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 494(2): 114-118.
- [23] ZHANG Y, TANG Y W, ZHOU J, et al. Electroacupuncture at ST36 ameliorates gastric dysmotility in rats with diabetic gastroparesis via the nucleus tractus solitarius-vagal axis [J]. *World J Gastroenterol*, 2025, 31(21): 107395.
- [24] HAN N, JIANG W J, LI G H, et al. Low-intensity pulsed ultrasound at ST36 improves the gastric motility by TNF- α /IKK β /NF- κ B signaling pathway in diabetic rats [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2023, 38(11): 2018-2026.
- [25] YAN D E, ZHAO Y N, GAO X Y, et al. Acute intravenous glucose load impairs early insulin secretion and insulin content in islet β cells in mice [J]. *Life Sci*, 2016, 144: 148-155.
- [26] STROM A, WANG G S, SCOTT F W. Impaired glucose tolerance in mice lacking cellular prion protein [J]. *Pancreas*, 2011, 40(2): 229-232.
- [27] XU D Q, JIANG Z Z, SUN Z R, et al. Mitochondrial dysfunction and inhibition of myoblast differentiation in mice with high-fat-diet-induced pre-diabetes [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7510-7523.
- [28] 唐勇. 实验针灸学 [M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2021: 257.
TANG Y. *Experimental acupuncturology* (in Chinese) [M]. 3rd edition. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2021: 257.
- [29] 王莉莉, 万红叶, 邢敏, 等. 电针“足三里”改善慢性心力衰竭小鼠心功能的效应机制研究 [J]. *针刺研究*, 2024, 49(12): 1231-1238.
WANG L L, WAN H Y, XING M, et al. Mechanism of electroacupuncture at “Zusanli” (ST36) in improving cardiac function in mice with chronic heart failure (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(12): 1231-1238.
- [30] HUANG J S, GUO B B, WANG G H, et al. DGAT1 inhibitors protect pancreatic β -cells from palmitic acid-induced apoptosis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(2): 264-271.
- [31] WANG T, SUN P, CHEN L, et al. Cinnamtannin D-1

- protects pancreatic β -cells from palmitic acid-induced apoptosis by attenuating oxidative stress[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(22): 5038-5045.
- [32] 张坤, 徐东升, 崔晶晶, 等. P物质在大鼠“三阴交”穴区相关感觉神经元和神经纤维中的表达[J]. *针刺研究*, 2015, 40(6): 449-454.
ZHANG K, XU D S, CUI J J, et al. The expression of substance P in sensory neurons and nerve fibers associated with “Sanyinjiao” (SP6) region in the rat (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2015, 40(6): 449-454.
- [33] 薛莉, 陈宏, 张萍, 等. 调理脾胃针法治疗2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝30例[J]. *辽宁中医杂志*, 2011, 38(10): 2029-2031.
XUE L, CHEN H, ZHANG P, et al. Treatment of 30 cases of type 2 diabetes mellitus with non-alcoholic fatty liver disease by spleen-stomach regulating acupuncture (in Chinese) [J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2011, 38(10): 2029-2031.
- [34] 梁运来, 张洪. 糖化血红蛋白即时检测临床应用专家共识[J]. *检验医学与临床*, 2025, 22(12): 1585-1590, 1596.
LIANG Y L, ZHANG H. Expert consensus on the clinical application of point-of-care testing for glycosylated hemoglobin (in Chinese) [J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2025, 22(12): 1585-1590, 1596.
- [35] 刘学礼, 胡静, 张艳. 空腹血糖、血脂及糖耐量检验在糖尿病生化检验中的应用价值[J]. *糖尿病新世界*, 2023, 26(13): 61-64.
LIU X L, HU J, ZHANG Y. Application value of fasting blood glucose, lipid and glucose tolerance tests in biochemical tests for diabetes mellitus (in Chinese) [J]. *Diabetes New World*, 2023, 26(13): 61-64.
- [36] MAKHMUTOVA M, WEITZ J, TAMAYO A, et al. Pancreatic β -cells communicate with vagal sensory neurons [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(3): 875-888.e11.
- [37] CABRERA O, BERMAN D M, KENYON N S, et al. The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function [J]. *PNAS*, 2006, 103(7): 2334-2339
- [38] KAWANA Y, IMAI J, MORIZAWA Y M, et al. Optogenetic stimulation of vagal nerves for enhanced glucose-stimulated insulin secretion and β cell proliferation [J]. *Nat Biomed Eng*, 2024, 8(7): 808-822.
- [39] DIRR E W, PATEL Y, JOHNSON R D, et al. The effects of targeted vagus nerve stimulation on glucose homeostasis in STZ-induced diabetic rodents [J]. *Front Neurosci*, 2023, 17: 1179276.
- [40] YAMAMOTO J, IMAI J, IZUMI T, et al. Neuronal signals regulate obesity induced β -cell proliferation by FoxM1 dependent mechanism [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1930.
- [41] 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.
- [42] JIANG H C, SHANG Z, YOU L P, et al. Electroacupuncture pretreatment at Zusanli (ST36) ameliorates hepatic ischemia/reperfusion injury in mice by reducing oxidative stress via activating vagus nerve-dependent Nrf2 pathway [J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 1595-1610.
- [43] ZHANG L Y, WU Z Y, ZHOU J, et al. Electroacupuncture ameliorates acute pancreatitis: a role for the vagus nerve-mediated cholinergic anti-inflammatory pathway [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 647647.
- [44] LIU M, WEISS M A, ARUNAGIRI A, et al. Biosynthesis, structure, and folding of the insulin precursor protein [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2018, 20(Suppl 2): 28-50.
- [45] BIDEN T J, BOSLEM E, CHU K Y, et al. Lipotoxic endoplasmic reticulum stress, β cell failure, and type 2 diabetes mellitus [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25(8): 389-398.
- [46] YONG J, JOHNSON J D, ARVAN P, et al. Therapeutic opportunities for pancreatic β -cell ER stress in diabetes mellitus [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(8): 455-467.
- [47] RODRIGUES-DOS-SANTOS K, ROY G, BINNS D D, et al. Small molecule-mediated insulin hypersecretion induces transient ER stress response and loss of beta cell function [J]. *Endocrinology*, 2022, 163(7): bqac081.
- [48] LEE J H, LEE J. Endoplasmic reticulum (ER) stress and its role in pancreatic β -cell dysfunction and senescence in type 2 diabetes [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4843.

收稿日期: 2025-06-03 修回日期: 2025-11-25