

☆ XXXX ☆

电针对 SAMP8 小鼠运动功能及肌、脑 PGC-1 α /FNDC5/BDNF 通路的影响

杨少敏¹, 郭婉清², 董卫国³, 黄俊燕¹, 黄晟涛¹, 黄芸¹, 詹思捷¹, 林岚³, 王丰³, 刘玲珑³
(¹福建中医药大学针灸推拿学院, 福州 350122; ²福建中医药大学附属第三人民医院, 福州 350108; ³福建中医药大学中西医结合学院/中西医结合研究院, 福州 350122)

【摘要】 目的:观察电针对快速老化 SAMP8 小鼠运动功能及骨骼肌形态结构的影响,从过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α (PGC-1 α)/Ⅲ型纤维蛋白结构域结合蛋白 5(FNDC5)/脑源性神经营养因子(BDNF)通路探讨电针改善阿尔茨海默病运动功能障碍的机制。方法:将 SAMP8 小鼠随机分为模型组与电针组,每组 9 只;以 9 只抗快速老化 SAMR1 小鼠作为对照组。电针组取“百会”“大椎”“肾俞”,每日电针 20 min,8 d 为 1 疗程,疗程之间间隔 2 d,共 3 个疗程。采用抓力实验、游泳实验、悬挂实验及后肢夹紧实验检测小鼠运动功能,HE 染色观察腓肠肌形态结构,免疫组织化学染色观察腓肠肌 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 阳性表达,实时荧光定量 PCR 检测腓肠肌及大脑运动皮层中 PGC-1 α 、FNDC5 和 BDNF mRNA 表达水平,Western blot 法检测腓肠肌及大脑运动皮层中 PGC-1 α 、FNDC5 和 BDNF 蛋白表达水平。结果:与对照组比较,模型组小鼠抓力峰值、游泳平均及最大速度、悬挂实验评分均显著降低($P < 0.01$),后肢夹紧实验评分显著增高($P < 0.01$),腓肠肌纤维松散且排列不规则、间距变宽及胞质染色不均,腓肠肌 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 阳性表达面积比均显著下降($P < 0.01$),腓肠肌及大脑运动皮层 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF mRNA 和蛋白相对表达量均显著下降($P < 0.01$);与模型组比较,电针组小鼠抓力峰值、游泳平均及最大速度、悬挂实验评分显著增高($P < 0.01$),后肢夹紧实验评分显著降低($P < 0.01$),肌纤维较完整且排列较规则、间距变窄及胞质染色较均匀,PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 阳性表达面积比均显著上升($P < 0.01$),腓肠肌和大脑运动皮层 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF mRNA 和蛋白相对表达量均显著上升($P < 0.01, P < 0.05$);腓肠肌和大脑运动皮层中 PGC-1 α 、FNDC5 和 BDNF mRNA 表达具有高度正相关关系($r > 0.70, P < 0.01$)。结论:电针可以改善 SAMP8 小鼠运动功能和骨骼肌形态结构,其机制可能与上调腓肠肌和大脑运动皮层中 PGC-1 α 、FNDC5 和 BDNF 表达相关。

【关键词】 阿尔茨海默病;电针;运动功能障碍;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α /Ⅲ型纤维蛋白结构域结合蛋白 5/脑源性神经营养因子通路

Effects of electroacupuncture on motor function and PGC-1 α /FNDC5/BDNF pathway in muscle and brain of SAMP8 mice

YANG Shao-min¹, GUO Wan-qing², DONG Wei-guo³, HUANG Jun-yan¹, HUANG Sheng-tao¹, HUANG Yun¹, ZHAN Si-jie¹, LIN Lan³, WANG Feng³, LIU Ling-long³ (¹College of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; ²The Third People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108; ³Institute of Integrative Chinese and Western Medicine, College of Integrated Chinese and Western Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122)

【ABSTRACT】 Objective To observe the effect of electroacupuncture (EA) on motor function and skeletal muscle morphology in SAMP8 mice, and to explore the mechanisms of EA improving motor dysfunction in Alzheimer's disease from the peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α (PGC-1 α)/fibronectin type Ⅲ domain-

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20250437

引用格式:杨少敏,郭婉清,董卫国,等.电针对 SAMP8 小鼠运动功能及肌、脑 PGC-1 α /FNDC5/BDNF 通路的影响[J].针刺研究,XXXX,XX(XX):1-9.

项目来源:国家自然科学基金项目(No.81973923);福建省自然科学基金项目(No.2022J01348);福建省中医药科研项目(No.2021zyjc23)

通信作者:郭婉清, E-mail: 1393068060@qq.com

containing protein 5 (FNDC5)/brain-derived neurotrophic factor (BDNF) pathway. **Methods** SAMP8 mice were randomly divided into model and electroacupuncture groups, with 9 mice in each group. Nine anti-aging SAMR1 mice were used as control group. In the electroacupuncture group, “Baihui” (GV20), “Dazhui” (GV14) and “Shenshu” (BL23) were needled with electroacupuncture for 20 min every day, 8 d as a course of treatment, with an interval of 2 d between courses, a total of 3 courses. The motor function of mice was detected by grasping test, swimming test, suspension test and hind limb clamping test. The morphological structure of gastrocnemius muscle was observed by HE staining. The positive expressions of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF in gastrocnemius muscle were observed by immunohistochemical staining. The expression levels of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF mRNAs in gastrocnemius muscle and cerebral motor cortex were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The expression levels of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF proteins in gastrocnemius muscle and cerebral motor cortex were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the peak grip strength, average and maximum swimming speed, and suspension test score of the model group were significantly decreased ($P < 0.01$), and the hind limb clamping test score was significantly increased ($P < 0.01$). The gastrocnemius muscle fibers were loose and irregularly arranged, the spacing was widened and the cytoplasmic staining was uneven. The positive expression area ratios of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF in gastrocnemius muscle were significantly decreased ($P < 0.01$), and the relative expression levels of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF mRNAs and proteins in gastrocnemius muscle and cerebral motor cortex were significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the peak grip strength, average and maximum swimming speed, and suspension test score of the electroacupuncture group were significantly increased ($P < 0.01$), and the hind limb clamping test score was significantly decreased ($P < 0.01$). The muscle fibers were intact and arranged regularly, the spacing was narrowed, and the cytoplasmic staining was uniform. The positive expression area ratios of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF were significantly increased ($P < 0.01$), and the relative expression levels of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF mRNAs and proteins in gastrocnemius muscle and cerebral motor cortex were significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The correlation analysis results of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF mRNA expression in gastrocnemius and cerebral motor cortex showed a highly positive correlation ($r > 0.70$, $P < 0.01$). **Conclusion** Electroacupuncture can improve motor dysfunction and skeletal muscle morphology in SAMP8 mice, and its mechanism may be related to up-regulation of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF expressions in gastrocnemius and cerebral motor cortex.

【KEYWORDS】 Alzheimer's disease; Electroacupuncture; Motor dysfunction; PGC-1 α /FNDC5/BDNF pathway

阿尔茨海默病(AD)占全部痴呆病例的60%~80%^[1],其主要临床特征是进行性认知、记忆和行为障碍。AD除认知功能受损外,同样存在运动功能的改变,具体包括步态减慢、平衡能力差、活动能力下降、握力减弱等^[2]。运动功能障碍可能在认知功能障碍出现前10年或者更早就已经开始,并随着认知功能障碍的进展而逐渐恶化。AD的发生可能与 β -淀粉样蛋白斑块(A β)异常沉积、Tau蛋白过度磷酸化等相关,其病理学改变如A β 在大脑运动皮层的大量表达可能损害患者的运动功能^[3]。

脑源性神经营养因子(BDNF)为AD病理学所涉及的蛋白质、神经稳态与免疫系统的共同调节因子之一,不仅与神经系统发育和功能有关,也参与损伤肌肉的修复与再生^[4],涉及BDNF的通路可能会影响认知和运动功能^[5]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子1 α (PGC-1 α)/Ⅲ型纤维蛋白结构域结合蛋白5(FNDC5)/BDNF通路在海马、皮层和骨骼肌等组织中均有表达,与AD病理学变化有

关,并且对改善肌肉功能、运动功能障碍具有正向调节作用。研究发现,跑台运动能够上调AD模型小鼠海马区PGC-1 α /FNDC5/BDNF通路的表达,降低A β 的沉积程度,从而延缓AD病理进程^[6]。电针是治疗AD的有效方法,不仅能改善AD患者的临床症状^[7-8],亦可改善AD模型SAMP8小鼠的运动功能和学习记忆能力^[9-12]。故本研究在前期基础上,从PGC-1 α /FNDC5/BDNF通路探讨电针改善AD模型SAMP8小鼠运动功能障碍的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

SPF级SAMP8小鼠18只、抗快速老化SAMR1小鼠9只,8月龄,雄性,体质量(35 \pm 5)g,购于杭州子源实验动物科技有限公司,生产许可证号:SCXK(浙)2019-0004,饲养于福建中医药大学动物实验中心,自由摄食饮水。饲养环境:室内湿度50%~60%,室温22~24 $^{\circ}$ C,灯光明暗自动每12h交替。

将 SAMP8 小鼠运用随机数字表法分成模型组(9 只)、电针组(9 只),SAMR1 小鼠作为对照组(9 只)。实验经福建中医药大学动物伦理委员会审批,审查批号:2023143。

1.2 主要试剂与仪器

GAPDH 抗体、 β -actin 抗体、PGC-1 α 抗体、FNDC5 抗体、BDNF 抗体、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗及抗鼠 IgG 二抗(武汉三鹰),苏木精、伊红染色液(北京索莱宝),SABC 试剂盒、DAB 显色试剂盒(武汉博士德),SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、预染蛋白 Marker(上海雅酶),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天),RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒(湖南艾克瑞),引物由上海生工合成。

华佗牌针灸针(0.25 mm \times 13 mm,苏州医疗用品厂),G6805-I 型电针治疗仪(青岛鑫升),大小鼠抓力仪、Morris 水迷宫检测系统(上海欣软),全自动样品快速研磨仪(上海净信),生物组织石蜡包埋机(孝感亚光),轮转式切片机、基因扩增仪(美国 Thermo Fisher Scientific),电泳仪(美国 Bio-Rad),酶标分析仪、Bio-Image 图像分析系统(美国 Bio-Tek),光学显微镜(德国 Leica)。

1.3 干预方法

电针组选用“百会”“大椎”“肾俞”进行干预:使用自制网兜和自制固定板,俯卧位固定小鼠,参照《实验针灸学》^[13]的腧穴定位,“百会”向前斜刺 2 mm,“大椎”向下斜刺 2~3 mm,“肾俞”向脊柱斜刺 3~4 mm。电针仪连接“大椎”与一侧“肾俞”(双侧隔日交替),设置连续波、频率 2 Hz、电流强度 1.5~2 mA。每日电针 20 min,8 d 为 1 疗程,疗程之间间隔 2 d,共 3 个疗程。模型组与对照组同样抓取固定,不予电针干预。

1.4 观察指标与检测方法

抓力实验检测小鼠肌力水平:提起小鼠尾部,将小鼠双侧前肢轻置于握力板上(后肢及身体处于悬空状态),待其紧握横杆,沿着抓力仪传感器轴线方向水平往后拉鼠尾,直至前肢松开抓力板,采集记录抓力峰值。重复 5 次取均值。

游泳实验检测小鼠运动功能:采用 Morris 水迷宫,将水放至 30 cm 深,水温保持在 22~24 $^{\circ}$ C,依次将小鼠轻柔放入水池中,采集 90 s 内的游泳平均速度和最大速度等数据。

悬挂实验评估小鼠四肢肌肉耐力、平衡及协调能力:将小鼠双侧前肢置于一根直径约为 1 mm 且

距地表将近 30 cm 高的金属线上,对小鼠 10 s 内抓握金属线情况进行评分。四肢均抓住线为 4 分;双前肢伴一后肢抓住线为 3 分;仅双前肢抓住线为 2 分;仅一前肢抓住线为 1 分;掉落为 0 分。重复 3 次取均值。

后肢夹紧实验评估小鼠肌肉萎缩情况:将小鼠尾巴提起,使其悬空倒挂,观察 10 s 内小鼠后肢收缩情况。两侧后肢均始终呈张开状态为 0 分;单侧后肢向腹部收缩并且时间大于 5 s 为 1 分;双侧后肢间隔向腹部收缩并且时间大于 5 s 为 2 分;后肢完全缩回腹部并且时间大于 5 s 为 3 分。评分越高代表肌肉萎缩情况越严重。重复 3 次取均值。

取材方法:行为学观测结束后,腹腔注射 0.3% 的戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉小鼠。每组取 3 只小鼠经 0.9% 氯化钠溶液和 4% 多聚甲醛灌注,取腓肠肌组织于 4% 多聚甲醛中固定 48 h;剩余 6 只小鼠取新鲜腓肠肌组织和大脑运动皮层组织于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存。

HE 染色法观察小鼠腓肠肌组织形态结构变化:腓肠肌组织固定完成后,进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡、石蜡包埋、切片(厚度 5 μ m)。烤片后,依次脱蜡至水、苏木精染核、自来水返蓝、伊红染色、脱水,封片后显微镜下观察。

免疫组织化学染色法检测小鼠腓肠肌组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 阳性表达:取上述石蜡切片,烤片、脱蜡至水、抗原修复、灭活、封闭,滴加一抗 PGC-1 α (1:100)、FNDC5(1:150)、BDNF(1:100) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,复温滴加山羊抗小鼠/兔 IgG 二抗、SABC,DAB 显色充分后,苏木精复染、返蓝、脱水封片后拍照。每张切片随机取 3 个视野,运用 Image J 计算平均阳性表达面积比(阳性表达面积/总视野面积)。

实时荧光定量 PCR(qPCR)检测小鼠腓肠肌、大脑运动皮层组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 的 mRNA 表达:取 20 mg 组织加入 1 mL RNAex,充分研磨(腓肠肌组织研磨前需剪碎),离心、沉淀后提取 RNA,测定浓度及纯度。计算样品体积,将 RNA 经 37 $^{\circ}$ C 15 min、85 $^{\circ}$ C 5 s 反转录为 cDNA。以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应条件为:94 $^{\circ}$ C 30 s,94 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 30 s(40 个循环),95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 1 min、95 $^{\circ}$ C 1 s。以 GAPDH 为内参,按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因相对表达量。引物序列见表 1。

Western blot 法检测小鼠腓肠肌、大脑运动皮层

表1 引物序列
Table 1 Primer sequences

| 基因 | 序列(5'→3') | 产物长度/bp |
|----------------|--------------------------|---------|
| PGC-1 α | 上游CGCTGCTCTTGAGAATGGATAT | 157 |
| | 下游GTCATACTTGCTCTTGGTGGAA | |
| FNDC5 | 上游AAGGACAACGAGCCCAATAAC | 101 |
| | 下游CATATCTTGCTGCGGAGGAG | |
| BDNF | 上游TTACCTGGATGCCGCAAACAT | 101 |
| | 下游TGACCCACTCGCTAATACTGTC | |
| GAPDH | 上游TGGAAAGCTGTGGCGTGATG | 198 |
| | 下游TACTTGGCAGGTTTCTCCAGG | |

注:PGC-1 α 为过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子1 α ,FNDC5为Ⅲ型纤维蛋白结构域结合蛋白5,BDNF为脑源性神经营养因子。

组织PGC-1 α 、FNDC5、BDNF的蛋白表达:取20 mg组织加入200 μ L裂解液,充分研磨,冰上静置30 min。低温高速离心,取上清,BCA法进行蛋白定量。蛋白上样、电泳、转膜、封闭后加入PGC-1 α (1:30 000)、FNDC5(1:2 000)、BDNF(1:2 000)、GAPDH(1:200 000)及 β -actin(1:8 000)一抗,4 $^{\circ}$ C孵育过夜。TBST溶液洗膜3次,PGC-1 α 、GAPDH膜浸于鼠二抗(1:5 000)及FNDC5、BDNF、 β -actin膜浸于

兔二抗(1:5 000)中,室温孵育1 h,ECL显影,以GAPDH(腓肠肌)及 β -actin(大脑运动皮层)为内参蛋白,用Image Lab分析灰度值,以目的蛋白与对应内参灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.5 统计学方法

用SPSS24.0软件进行统计分析。计量资料以平均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。数据符合正态性分布且方差齐选用单因素方差分析,组间两两比较选用LSD法,采用Pearson线性相关系数进行相关性分析。 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准, $r>0.70$ 表示高度相关。

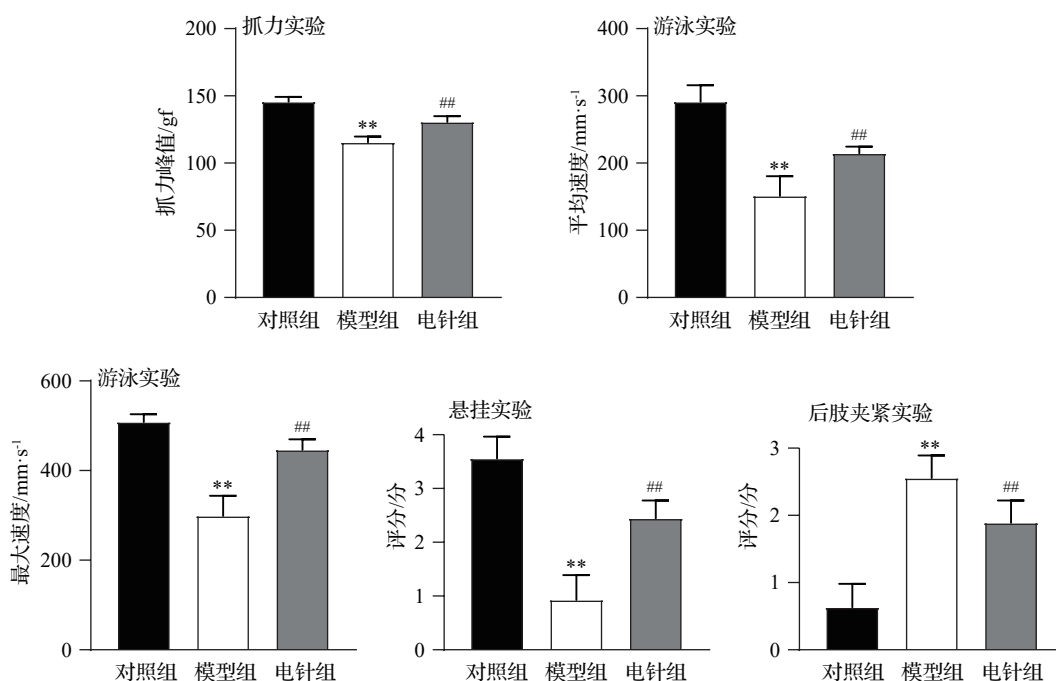
2 结果

2.1 各组小鼠运动功能比较

与对照组相比,模型组抓力峰值、游泳平均速度及最大速度、悬挂实验评分均显著降低($P<0.01$),后肢夹紧实验评分显著增高($P<0.01$);与模型组相比,电针组抓力峰值、游泳平均速度及最大速度、悬挂实验评分显著增高($P<0.01$),后肢夹紧实验评分显著降低($P<0.01$)。见图1。

2.2 各组小鼠腓肠肌组织形态结构变化比较

对照组无明显病理形态结构改变,肌纤维完整且排列规则,肌细胞间距均匀,胞质染色相对一致;与对照组相比,模型组肌纤维松散且排列不规则,肌细胞间距变宽,胞质染色整体不均匀;与模型组



注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图1 各组小鼠运动功能比较($\bar{x}\pm s$,9只鼠/组)

Fig. 1 Comparison of motor function of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 9 mice/group)

相比,电针组肌纤维较完整且排列较规则,肌细胞间距变窄,胞质染色较均匀。见图2。

2.3 各组小鼠腓肠肌组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 阳性表达比较

PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 主要表达于细胞质和

细胞膜,其阳性表达呈棕黄色。与对照组相比,模型组腓肠肌组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 阳性表达面积比均显著下降($P<0.01$);与模型组相比,电针组腓肠肌组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 阳性表达面积比均显著升高($P<0.01$)。见图3。

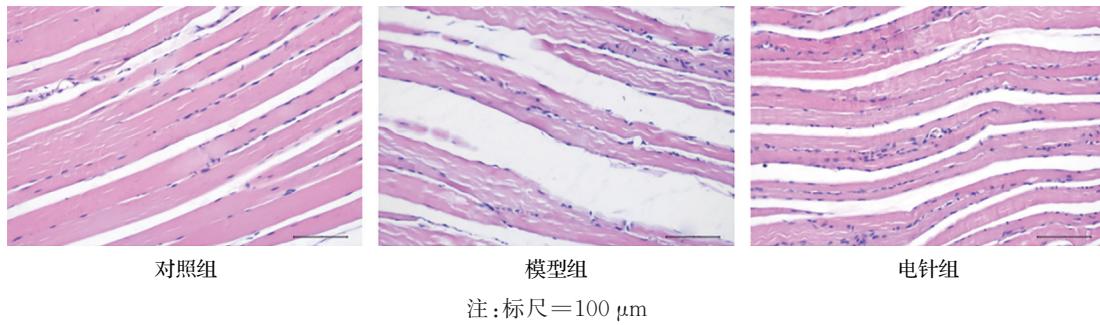
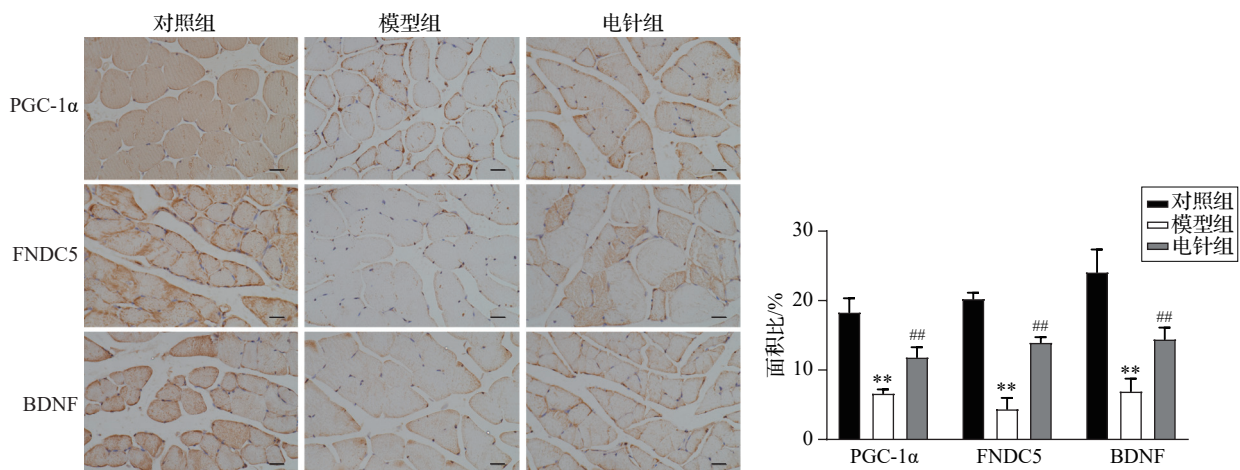


图2 各组小鼠腓肠肌组织形态结构变化比较(HE染色)

Fig. 2 Comparison of morphological changes of gastrocnemius muscle tissue in the 3 groups (HE staining)



注:PGC-1 α 为过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子1 α ,FNDC5为III型纤维蛋白结构域结合蛋白5,BDNF为脑源性神经营养因子。棕黄色为阳性表达,标尺=50 μ m。与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图3 各组小鼠腓肠肌组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 阳性表达比较(免疫组织化学染色, $\bar{x}\pm s$,3只鼠/组)

Fig. 3 Comparison of positive expressions of PGC-1 α , FNDC5 and BDNF in gastrocnemius muscle of mice in the 3 groups (immunohistochemical staining, $\bar{x}\pm s$, 3 mice/group)

2.4 各组小鼠腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF mRNA 表达比较

与对照组相比,模型组腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF mRNA 相对表达量均显著下降($P<0.01$);与模型组相比,电针组腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF mRNA 相对表达量均显著升高($P<0.01$)。见图4。

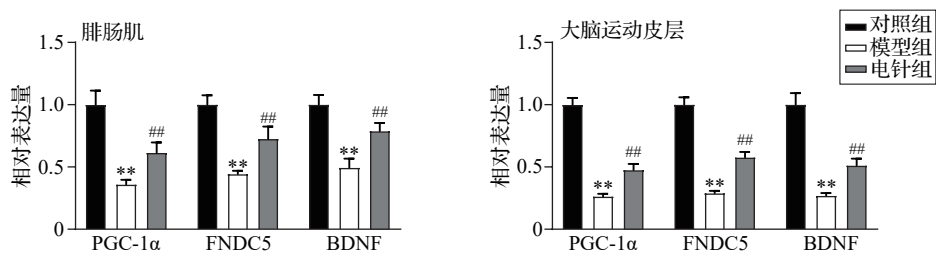
2.5 各组小鼠腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 蛋白表达比较

与对照组相比,模型组腓肠肌和大脑运动皮层

组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 蛋白相对表达量均显著下降($P<0.01$);与模型组相比,电针组腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF 蛋白相对表达量均显著升高($P<0.01$, $P<0.05$)。见图5。

2.6 腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1 α 、FNDC5、BDNF mRNA 表达相关性分析

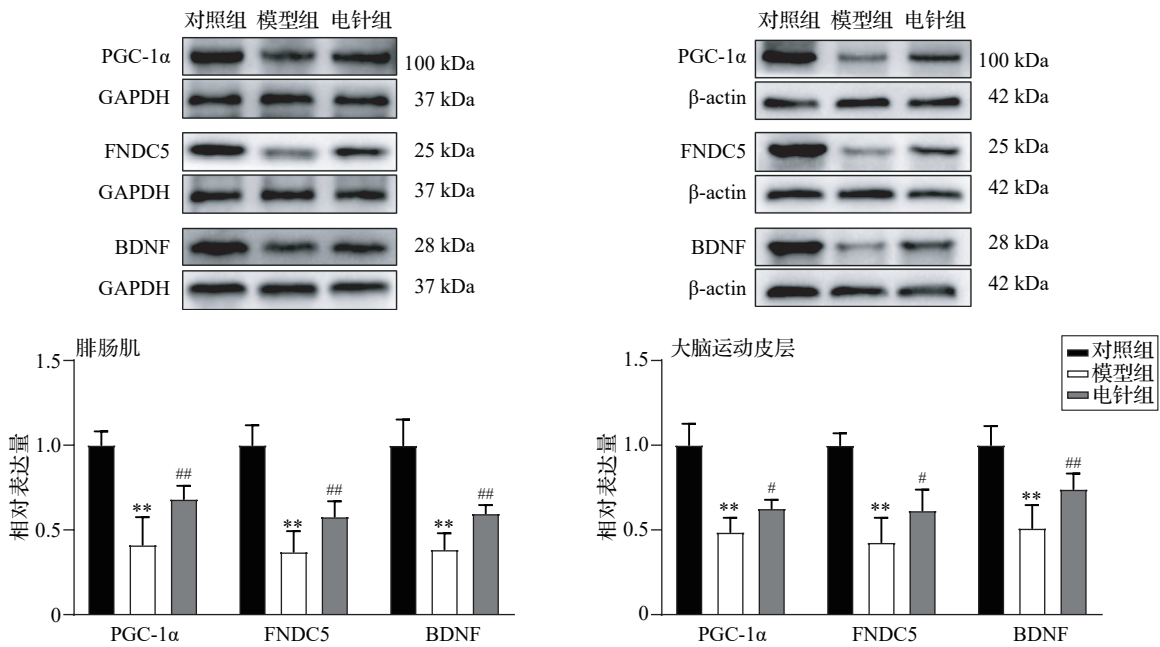
相关性分析结果显示,小鼠腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1 α 、FNDC5 和 BDNF mRNA 的表达呈高度正相关($r>0.70$),具有统计学意义($P<0.01$)。见表2。



注:PGC-1α为过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α, FNDC5为Ⅲ型纤维蛋白结构域结合蛋白5, BDNF为脑源性神经营养因子。与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$ 。

图4 各组小鼠腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1α、FNDC5、BDNF mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of PGC-1α, FNDC5 and BDNF mRNA expressions in gastrocnemius muscle and motor cortex of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)



注:PGC-1α为过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α, FNDC5为Ⅲ型纤维蛋白结构域结合蛋白5, BDNF为脑源性神经营养因子。与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图5 各组小鼠腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1α、FNDC5、BDNF 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of protein expressions of PGC-1α, FNDC5 and BDNF in gastrocnemius muscle and motor cortex of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)

表2 腓肠肌和大脑运动皮层组织 PGC-1α、FNDC5、BDNF mRNA 表达相关性分析 ($\bar{x} \pm s$, 18只鼠)

Table 2 Correlation analysis of the expression of PGC-1α, FNDC5 and BDNF mRNAs in the gastrocnemius and cerebral motor cortex ($\bar{x} \pm s$, 18 mice)

| 指标 | 腓肠肌 | 大脑运动皮层 | 相关系数(r) | P 值 |
|--------|-----------|-----------|-------------|-------|
| PGC-1α | 0.58±0.25 | 0.53±0.29 | 0.97 | <0.01 |
| FNDC5 | 0.70±0.24 | 0.67±0.33 | 0.96 | <0.01 |
| BDNF | 0.76±0.22 | 0.52±0.28 | 0.91 | <0.01 |

注:PGC-1α为过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α, FNDC5为Ⅲ型纤维蛋白结构域结合蛋白5, BDNF为脑源性神经营养因子。

3 讨论

AD属本虚标实,其“虚”虽涉及多脏,但根本在于肾虚,肾精亏损则髓消,消而不充使脑神失于

濡养,对肢体的调控减弱则出现运动功能障碍。背俞穴与脏腑的虚实盛衰密切相关,故选择膀胱经的“肾俞”进行干预治疗。而督脉“入络脑”又“入循脊

络肾”，且总督一身之阳，督脉受损伤则经络不通、经气不利，阳气不能输布周身，进而使肢体出现活动不利、痿软麻木现象，故选择脑项的督脉穴位“百会”“大椎”。现代研究^[14-15]亦表明，益肾调督针法能够改善肌肉、运动功能。三穴合用，基于益肾调督针法，调补肾中精气并激发督脉经气，使经脉气血流畅，脑和肢体皆有所养。

研究报道^[16]，AD患者会出现四肢运动迟缓、步态姿势不稳、肢体僵硬、震颤等体征。有临床研究^[17]认为AD患者大脑初级运动皮层功能障碍导致运动异常。部分研究表明AD对运动神经元功能有影响，故动物出现运动缺陷、运动活动减少和丧失游泳能力等^[18-19]。前期研究^[9-10]显示，SAMP8小鼠存在肌力下降及运动功能障碍。SAMP8小鼠是公认的比较理想的AD模型，不仅表现出AD的行为和关键神经病理学特征，还具有骨骼肌质量、力量进行性丧失及运动功能不佳的特征。本研究结果显示，模型组小鼠出现运动功能障碍，电针治疗后，电针组小鼠的肌肉力量、平衡协调能力、肌肉萎缩和运动能力较模型组有所改善。骨骼肌是运动的基础，骨骼肌的变化如肌纤维发生萎缩与神经肌肉激活程度降低，均会对运动的速度、力量及强度产生影响，致使身体机能减退而出现功能障碍。有研究发现^[20]，电针可延缓失神经性肌肉萎缩大鼠的腓肠肌萎缩，维持其形态相对完整性。前期研究^[10]观察到，SAMP8小鼠腓肠肌结构异常，电针干预能够改善腓肠肌肌纤维、肌间距等形态。本研究HE染色结果显示，模型组小鼠腓肠肌形态结构受损，电针组较模型组腓肠肌病理形态得到改善。本研究结果与此前文献报道^[9-10,18-20]相似，说明电针能够改善SAMP8小鼠运动功能和骨骼肌病理形态结构。

临床研究表明^[21-23]，脑组织中BDNF水平降低与AD进展有关，AD患者海马、顶叶皮层等的BDNF mRNA表达降低。BDNF有助于骨骼肌适应运动，只有在皮质BDNF mRNA水平升高时，才能有效改善脑出血运动功能障碍^[24]，增加BDNF表达可增强神经可塑性。FNDC5是一种跨膜前体蛋白，鸢尾素(Irisin)是来源于FNDC5的切割产物，FNDC5的分泌形式被命名为Irisin。FNDC5/Irisin在预防AD相关的突触损伤、氧化应激和神经病理学变化等方面显示出潜力^[25]。FNDC5有利于肌肉发育和基础代谢，缺乏FNDC5/Irisin的老年小鼠表现出肌肉萎缩加剧，进而影响运动功能^[26]。FNDC5是BDNF表达的正调节因子，其基因表达增加能使

BDNF水平升高^[27]。因此，本研究从激活FNDC5上调BDNF的相关通路切入，以探讨促进AD运动功能恢复的作用机制。研究表明^[6]，PGC-1 α /FNDC5/BDNF通路在AD中发挥神经保护作用。PGC-1 α 在AD患者和AD模型小鼠脑中的表达均降低^[28-29]，缺乏PGC-1 α 的小鼠在4周龄时表现出明显的运动缺陷，包括协调性降低和静止性震颤发生率增加^[30]。PGC-1 α 激活后可上调其下游的FNDC5，FNDC5表达升高能上调BDNF水平。衰老会降低PGC-1 α 、BDNF的表达水平，口服1,5-脱水-D-果糖可上调AD模型SAMP8小鼠大脑皮层与海马PGC-1 α /BDNF通路，缓解与衰老相关的运动、认知功能下降^[31]。此外，电针改善肌肉和运动功能与PGC-1 α /FNDC5/BDNF通路相关。电针能上调骨骼肌PGC-1 α 、FNDC5表达，有效控制失神经性骨骼肌萎缩的速度，改善大鼠骨骼肌萎缩^[32]。电针可能通过激活大脑皮层PGC-1 α /FNDC5/BDNF通路，进而促进局灶性脑缺血/再灌注损伤大鼠运动功能的恢复^[33]。本研究中，免疫组织化学染色结果显示，模型组腓肠肌PGC-1 α 、FNDC5、BDNF表达较对照组下降；电针组腓肠肌PGC-1 α 、FNDC5、BDNF表达较模型组上升。qPCR及Western blot结果显示，模型组腓肠肌和大脑运动皮层PGC-1 α 、FNDC5、BDNF较对照组表达均下降，电针能提高腓肠肌和大脑运动皮层PGC-1 α 、FNDC5、BDNF表达。

越来越多的证据表明，脑与肌肉之间存在交互作用。运动不是一个单一的过程，不同运动能力来源于大脑和脊髓不同运动控制系统的协调活动，通过周围神经系统延伸到肌肉骨骼结构^[34]。运动性能启动、计划和执行的控制系统位于相互连接的皮层与皮层下运动区域，它们直接控制肌肉，肌肉是所有运动的最终效应器^[35]。另外，AD病理标志物在脑组织中积累形成神经炎性斑块，会影响与运动控制相关的其他大脑区域，例如运动皮层，导致AD患者发生运动功能障碍，甚至残疾^[2]。运动皮层信息投射到背外侧纹状体，而纹状体与学习、调节运动功能和肢体运动协调有重要关系^[36]。故AD运动功能障碍与骨骼肌、大脑运动皮层有密切联系。本研究相关性分析结果显示，PGC-1 α 、FNDC5和BDNF的mRNA表达在腓肠肌和大脑运动皮层中存在高度正相关关系。电针可能通过激活骨骼肌PGC-1 α /FNDC5信号通路上调脑组织BDNF表达，发挥改善运动功能障碍的作用。研究^[27,37]表明，骨骼肌PGC-1 α 诱导FNDC5裂解为Irisin进入血液循环，穿

越血脑屏障后激活脑组织中的PGC-1 α ,通过PGC-1 α /FNDC5/BDNF通路促进神经生长。以上结果提示,电针可能通过激活PGC-1 α /FNDC5/BDNF通路发挥改善AD运动功能障碍的作用。

综上所述,电针可以改善SAMP8小鼠运动功能障碍和骨骼肌形态结构,其机制可能与上调腓肠肌和大脑运动皮层中PGC-1 α 、FNDC5和BDNF表达相关。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] ROSTAGNO A A. Pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 107.
- [2] KOPPELMANS V, SILVESTER B, DUFF K. Neural mechanisms of motor dysfunction in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a systematic review [J]. *J Alzheimers Dis Rep*, 2022, 6(1): 307-344.
- [3] 林仁, 赵小贞, 王玮, 等. 阿尔茨海默病小鼠脑A β 和LC3分布差异及相关性[J]. *福建医科大学学报*, 2013, 47(2): 70-75.
LIN R, ZHAO X Z, WANG W, et al. The distribution difference and correlation of A β and LC3 in the brain of Alzheimer's disease in mouse (in Chinese) [J]. *Journal of Fujian Medical University*, 2013, 47(2): 70-75.
- [4] CLOW C, JASMIN B J. Brain-derived neurotrophic factor regulates satellite cell differentiation and skeletal muscle regeneration[J]. *Mol Biol Cell*, 2010, 21(13): 2182-2190.
- [5] BELVIRANL M, OKUDAN N. Exercise training protects against aging-induced cognitive dysfunction via activation of the hippocampal PGC-1 α /FNDC5/BDNF pathway [J]. *Neuromolecular Med*, 2018, 20(3): 386-400.
- [6] 吴慧民. 跑台运动激活PGC-1 α /FNDC5/BDNF通路减少APP/PS1小鼠海马A β 的机制研究[D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2023.
WU H M. Mechanism of treadmill exercise activating PGC-1 α /FNDC5/BDNF pathway to reduce A β in hippocampus of APP/PS1 mice (in Chinese) [D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2023.
- [7] 冯晴, 宾璐璐, 翟炎冰, 等. 电针改善阿尔茨海默病患者MMSE评分的远期疗效及安全性评价[J]. *中国针灸*, 2019, 39(1): 3-8.
FENG Q, BIN L L, ZHAI Y B, et al. Long-term efficacy and safety of electroacupuncture on improving MMSE in patients with Alzheimer's disease (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2019, 39(1): 3-8.
- [8] 刘应龙, 刘俊宏, 李方方, 等. 电针百会、神庭穴对阿尔茨海默病患者认知功能及神经递质的影响[J]. *现代中医药*, 2022, 42(1): 104-107.
LIU Y L, LIU J H, LI F F, et al. Effects of electroacupuncture at Baihui and Shenting points on cognitive function and neurotransmitters in patients with Alzheimer's disease (in Chinese) [J]. *Modern Chinese Medicine*, 2022, 42(1): 104-107.
- [9] 温辰光, 董卫国, 郭婉清, 等. 电针对SAMP8小鼠运动功能及Irisin、Decorin、Myostatin表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2024, 31(11): 110-115.
WEN C G, DONG W G, GUO W Q, et al. Effects of electroacupuncture on motor function and the expressions of Irisin, Decorin and Myostatin in SAMP8 mice (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2024, 31(11): 110-115.
- [10] 温若兰, 郭婉清, 董卫国, 等. 电针对快速老化模型小鼠骨骼肌线粒体动力学的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2024, 31(2): 104-109.
WEN R L, GUO W Q, DONG W G, et al. Effects of electroacupuncture on skeletal muscle mitochondrial dynamics in SAMP8 mice (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2024, 31(2): 104-109.
- [11] 李金全, 董卫国, 温若兰, 等. 电针对阿尔茨海默病小鼠海马髓鞘相关蛋白表达的影响[J]. *针刺研究*, 2025, 50(1): 57-64.
LI J Q, DONG W G, WEN R L, et al. Effect of electroacupuncture on the expressions of myelin-related proteins in the hippocampus of mice with Alzheimer's disease (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(1): 57-64.
- [12] 陈丽敏, 郭婉清, 温若兰, 等. 电针对小鼠海马C3/C3aR/STAT3信号通路的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2023, 30(4): 71-76.
CHEN L M, GUO W Q, WEN R L, et al. Effects of electroacupuncture on hippocampal C3/C3aR/STAT3 signaling pathway in mice (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2023, 30(4): 71-76.
- [13] 余曙光, 徐斌. 实验针灸学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 267-268.
YU S G, XU B. *Experimental acupuncturology* (in Chinese) [M]. 2nd edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2016: 267-268.
- [14] 麦威, 周开斌, 梁天佳, 等. 益肾调督针法治疗脑卒中后偏身感觉障碍的临床疗效分析[J]. *广西医科大学学报*, 2019, 36(4): 610-613.
MAI W, ZHOU K B, LIANG T J, et al. Clinical effect on Yishen Tiaodu acupuncture treatment for hemiplegic sensory disorder after stroke (in Chinese) [J]. *Journal of Guangxi Medical University*, 2019, 36(4): 610-613.
- [15] 李雁, 庞勇, 邹卓成. 益肾调督针法治疗缺血性中风临床研究[J]. *上海针灸杂志*, 2006, 25(7): 7-9.
LI Y, PANG Y, ZOU Z C. Clinical study on treatment of ischemic stroke by kidney-reinforcing and Du channel-regulating acupuncture method (in Chinese) [J]. *Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion*, 2006, 25(7): 7-9.
- [16] TOSTO G, MONSELL S E, HAWES S E, et al. Pattern of extrapyramidal signs in Alzheimer's disease [J]. *J Neurol*,

- 2015, 262(11): 2548-2556.
- [17] BOLOGNA M, GUERRA A, COLELLA D, et al. Bradykinesia in Alzheimer's disease and its neurophysiological substrates[J]. *Clin Neurophysiol*, 2020, 131(4): 850-858.
- [18] LAZAROV O, MORFINI G A, PIGINO G, et al. Impairments in fast axonal transport and motor neuron deficits in transgenic mice expressing familial Alzheimer's disease-linked mutant presenilin 1[J]. *J Neurosci*, 2007, 27(26): 7011-7020.
- [19] WIRTHS O, BAYER T A. Motor impairment in Alzheimer's disease and transgenic Alzheimer's disease mouse models[J]. *Genes Brain Behav*, 2008, 7(Suppl 1): 1-5.
- [20] 赵伟, 刘延祥, 王占魁, 等. 自噬在电针对大鼠失神经性肌肉萎缩的肌细胞形态计量学影响中的作用[J]. *辽宁中医杂志*, 2015, 42(7): 1347-1349.
- ZHAO W, LIU Y X, WANG Z K, et al. Influence of autophagy to muscle cells form metrology in the process of denervated muscles atrophy treated by electric acupuncture in rats (in Chinese)[J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 42(7): 1347-1349.
- [21] PHILLIPS H S, HAINS J M, ARMANINI M, et al. BDNF mRNA is decreased in the hippocampus of individuals with Alzheimer's disease[J]. *Neuron*, 1991, 7(5): 695-702.
- [22] GARZON D, YU G H, FAHNSTOCK M. A new brain-derived neurotrophic factor transcript and decrease in brain-derived neurotrophic factor transcripts 1, 2 and 3 in Alzheimer's disease parietal cortex[J]. *J Neurochem*, 2002, 82(5): 1058-1064.
- [23] GINSBERG S D, MALEK-AHMADI M H, ALLDRED M J, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and TrkB hippocampal gene expression are putative predictors of neuritic plaque and neurofibrillary tangle pathology[J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 132: 104540.
- [24] INOUE T, TAKAMATSU Y, OKAMURA M, et al. Ipsilateral BDNF mRNA expression in the motor cortex positively correlates with motor function of the affected forelimb after intracerebral hemorrhage[J]. *Brain Res*, 2021, 1767: 147536.
- [25] PAOLETTI I, COCCURELLO R. Irisin: a multifaceted hormone bridging exercise and disease pathophysiology[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(24): 13480.
- [26] GUO M W, YAO J, LI J, et al. Irisin ameliorates age-associated sarcopenia and metabolic dysfunction [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2023, 14(1): 391-405.
- [27] WRANN C D, WHITE J P, SALOGIANNIS J, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway[J]. *Cell Metab*, 2013, 18(5): 649-659.
- [28] QIN W P, HAROUTUNIAN V, KATSEL P, et al. PGC-1 α expression decreases in the Alzheimer disease brain as a function of dementia[J]. *Arch Neurol*, 2009, 66(3): 352-361.
- [29] WANG J, LIU W J, SHI H Z, et al. A role for PGC-1 α in the control of abnormal mitochondrial dynamics in Alzheimer's disease[J]. *Cells*, 2022, 11(18): 2849.
- [30] LUCAS E K, DOUGHERTY S E, MCMEEKIN L J, et al. Developmental alterations in motor coordination and medium spiny neuron markers in mice lacking PGC-1 α [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42878.
- [31] KIKUCHI K, OTSUKA S, TAKADA S, et al. 1, 5-anhydro-D-fructose induces anti-aging effects on aging-associated brain diseases by increasing 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase activity via the peroxisome proliferator-activated receptor- γ co-activator-1 α /brain-derived neurotrophic factor pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(21): 11740-11763.
- [32] 刘祥华, 罗湘筠, 李文倩. 电针对骨骼肌萎缩模型大鼠的干预效果及作用机制研究[J]. *针灸临床杂志*, 2020, 36(9): 65-69.
- LIU X H, LUO X Y, LI W Q. Intervention effect and mechanism of electro-acupuncture on skeletal muscle atrophy model rats (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion*, 2020, 36(9): 65-69.
- [33] 顾卫佳, 鲍春蓉, 谢鸿宇, 等. 电针对局灶性脑缺血再灌注大鼠过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子1 α 、鸢尾素和脑源性神经营养因子的影响[J]. *针刺研究*, 2022, 47(5): 428-434.
- GU W J, BAO C R, XIE H Y, et al. Effect of electroacupuncture invention on activities of PGC-1 α /Irisin (FNDC5)/BDNF signaling in cerebral cortex, hippocampus and muscles in focal cerebral ischemic/reperfusion injury rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2022, 47(5): 428-434.
- [34] HIKOSAKA O, NAKAMURA K, SAKAI K, et al. Central mechanisms of motor skill learning[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2002, 12(2): 217-222.
- [35] BUCHMAN A S, BENNETT D A. Loss of motor function in preclinical Alzheimer's disease[J]. *Expert Rev Neurother*, 2011, 11(5): 665-676.
- [36] ANDRESKA T, RAUSKOLB S, SCHUKRAFT N, et al. Induction of BDNF expression in layer II/III and layer V neurons of the motor cortex is essential for motor learning[J]. *J Neurosci*, 2020, 40(33): 6289-6308.
- [37] 夏杰, 刘微娜, 漆正堂, 等. PGC-1 α 介导的“肌脑 Crosstalk”与运动的抗抑郁机制: 基于整合生物学的反思与展望[J]. *上海体育学院学报*, 2017, 41(4): 57-64.
- XIA J, LIU W N, QI Z T, et al. PGC-1 α -mediated muscle/brain crosstalk and antidepressant effects of exercise: reflection and prospect from integrative biology (in Chinese) [J]. *Journal of Shanghai University of Sport*, 2017, 41(4): 57-64.

收稿日期:2025-04-27 修回日期:2025-07-16