☆ XXXX ☆

电针调控自噬-溶酶体途径改善高脂血症大鼠肝脏脂质沉积

刘曼琦[1]，覃　朗[1]，孙歆瑶[1]，陶厚宇[1]，张红星[1,2]，潘小丽[1,3]
（[1]湖北中医药大学针灸骨伤学院，武汉 430061；[2]江汉大学针灸研究所，武汉 430056；
[3]湖北时珍实验室，武汉 430061）

【摘　要】 **目的：**基于自噬-溶酶体途径探讨电针“丰隆”对高脂血症大鼠肝脏脂质沉积的效应机制。**方法：**将18只雄性SD大鼠按照随机数字表法分为空白组6只，造模组12只。造模组大鼠予以高脂饲料喂养6周制备高脂血症模型。造模成功后，将造模组随机分为模型组、电针组，每组6只。电针组大鼠进行双侧“丰隆”电针治疗，每日1次，每周连续治疗5 d，休息2 d，共4周。干预结束后，使用全自动生化分析仪检测大鼠血清三酰甘油（TG）、总胆固醇（TC）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）水平；称量肝脏湿重计算肝指数；比色法检测肝组织TG、TC含量；HE和油红O染色观察肝组织病理变化；透射电子显微镜观察肝细胞自噬体；免疫组织化学法检测肝组织溶酶体相关膜蛋白（LAMP）1、LAMP2、葡萄糖调节蛋白78（GRP78）、磷酸化蛋白激酶样内质网激酶（p-PERK）的表达；Western blot法检测肝组织酵母Atg6同源蛋白（Beclin1）、微管相关蛋白1轻链3（LC3）、泛素结合蛋白P62（P62）、GRP78、p-PERK的表达水平；免疫荧光染色法检测肝组织LC3和钙网蛋白（Calreticulin）的阳性表达。**结果：**与空白组比较，模型组大鼠血清TG、TC、LDL-C含量升高（$P<0.01$），HDL-C含量降低（$P<0.01$）；肝指数和肝组织TG、TC水平显著升高（$P<0.01$）；HE和油红O染色可见明显脂质蓄积；透射电子显微镜可见肝细胞内细胞器损伤，自噬体少见；免疫组织化学染色显示肝组织LAMP1、LAMP2阳性表达显著减少（$P<0.01$），GRP78、p-PERK阳性表达显著增加（$P<0.01$）；Western blot显示肝组织Beclin1、LC3-Ⅱ蛋白表达减少（$P<0.01$），LC3-Ⅰ、P62、GRP78、p-PERK蛋白表达增加（$P<0.01$）；免疫荧光显示肝组织Calreticulin荧光强度显著增强（$P<0.01$），LC3阳性斑点数量显著下降（$P<0.01$）。与模型组比较，电针组大鼠血清TG、TC、LDL-C含量显著降低（$P<0.01$），HDL-C含量升高（$P<0.01$）；肝指数和肝组织TC、TG水平降低（$P<0.01$，$P<0.05$）；HE染色和油红O染色可见脂质蓄积明显减轻；透射电子显微镜可见肝细胞自噬体增多；免疫组织化学染色显示肝组织LAMP1、LAMP2阳性表达显著增加（$P<0.01$），GRP78、p-PERK阳性表达显著减少（$P<0.01$）；Western blot显示肝组织Beclin1、LC3-Ⅱ蛋白表达增加（$P<0.01$），LC3-Ⅰ、P62、GRP78、p-PERK蛋白表达减少（$P<0.01$，$P<0.05$）；免疫荧光显示肝组织Calreticulin荧光强度减弱（$P<0.01$），LC3荧光斑点数量增多（$P<0.05$）。**结论：**电针“丰隆”可显著改善高脂血症大鼠肝脏脂质沉积，其机制可能与调控自噬-溶酶体途径，缓解持续内质网应激有关。

【关键词】 电针；丰隆；高脂血症；自噬-溶酶体；内质网应激

Electroacupuncture ameliorates hepatic lipid deposition in hyperlipidemic rats by regulating the autophagy-lysosome pathway

Liu Manqi[1], Qin Lang[1], Sun Xinyao[1], Tao Houyu[1], Zhang Hongxing[1,2], Pan Xiaoli[1,3] ([1]College of Acupuncture and Orthopedics, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China; [2]Institute of Acupuncture and Moxibustion, Jianghan University, Wuhan 430056; [3]Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430061)

【ABSTRACT】 **Objective** To explore the underlying mechanism of electroacupuncture (EA) at “Fenglong”

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20260043
引用格式：刘曼琦，覃朗，孙歆瑶，等. 电针调控自噬-溶酶体途径改善高脂血症大鼠肝脏脂质沉积[J]. 针刺研究，XXXX，XX(XX)：1-11.
项目来源：国家自然科学基金项目（No.82405577、82274663）；湖北省技术创新计划（No.2024BCB010）
通信作者：潘小丽，E-mail：pxlzhenjiu@163.com

(ST40) in ameliorating hepatic lipid deposition in hyperlipidemic rats based on the autophagy-lysosome pathway. **Methods** Eighteen male SD rats were randomly divided into blank, model and EA groups (n=6 in each group) using a random number table. Rats in the modeling group were fed a high-fat diet for 6 weeks to establish a hyperlipidemia model. Rats in the EA group received EA at bilateral ST40 once daily, 5 consecutive days per week for 4 weeks. After the intervention, serum levels of triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were detected using an automatic biochemical analyzer. Hepatic TG and TC contents were measured by colorimetry to calculate the liver index. Hepatic histopathological changes were observed after HE and Oil Red O staining. Hepatocellular autophagosomes were observed using transmission electron microscopy (TEM). The expression levels of lysosomal-associated membrane protein 1 (LAMP1), LAMP2, glucose-regulated protein 78 (GRP78), and phosphorylated protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase (p-PERK) in liver tissue were detected by immunohistochemistry. The protein expression levels of Beclin1, microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3), ubiquitin-binding protein P62 (P62), GRP78, and p-PERK were detected by Western blot. The positive expressions of LC3 and Calreticulin in liver tissues were detected using immunofluorescence (IF). **Results** Compared with the blank group, the model group showed significantly increased serum TG, TC, and LDL-C levels (P<0.01), decreased HDL-C levels (P<0.01); the liver index and hepatic TG and TC levels were significantly elevated (P<0.01); HE and Oil Red O staining revealed obvious lipid accumulation; TEM showed organelle damage and rare autophagosomes in hepatocytes; IHC indicated significantly down-regulated positive expressions of LAMP1 and LAMP2 (P<0.01), and significantly up-regulated expressions of GRP78 and p-PERK (P<0.01); Western blot showed significantly decreased protein expression levels of Beclin1 and LC3-Ⅱ (P<0.01) and increased expression of LC3-Ⅰ, P62, GRP78, and p-PERK (P<0.01, P<0.05); IF showed significantly decreased positive expression of LC3 (P<0.05) and increased positive expression of Calreticulin (P<0.01). Compared with the model group, all the above indicators in the EA group were reversed (P<0.01, P<0.05). **Conclusion** EA at ST40 can significantly ameliorates hepatic lipid deposition in hyperlipidemic rats. The underlying mechanism may be related to its functions in regulating the autophagy-lysosome pathway and alleviating sustained endoplasmic reticulum stress.

【KEYWORDS】 Electroacupuncture; Fenglong (ST40); Hyperlipidemia; Autophagy-lysosome; Endoplasmic reticulum stress

高脂血症作为动脉粥样硬化性心血管疾病的核心危险因素，其全球患病率持续攀升。据《中国心血管健康与疾病报告2024概要》显示，我国大于18岁居民血脂异常患病率高达38.1%，已成为重大公共卫生挑战[1]。当前临床主要依赖他汀类降脂药进行干预，但长期应用存在肌痛、肝酶升高等不良反应，部分患者甚至出现“他汀抵抗”现象[2]，亟须探索安全有效的替代或补充疗法。

针灸作为传统医学的重要组成部分，凭借整体调节、不良反应小的优势，在多种慢性代谢性疾病的防治中展现出独特价值。世界卫生组织和《中国血脂管理指南(2023年)》均明确指出，针灸可作为高脂血症的辅助治疗手段[3-4]。丰隆为足阳明胃经络穴，自古以来被视为祛痰要穴，具有“健脾化痰，和胃降浊”之功。现代研究证实其可有效调节脂质代谢[5]。研究表明，电针“丰隆”能显著降低高脂血症患者及模型动物的血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平[6-7]，但其深层作用机制尚未阐明。

自噬是真核细胞通过溶酶体降解受损细胞器、错误折叠蛋白及脂滴等，以维持细胞内环境稳态的重要过程[8]。研究表明，长期高脂饮食可导致肝细胞自噬功能受损，抑制自噬体与溶酶体结合，进而引起肝脏脂质积聚[9]。在肝细胞内，自噬体包裹脂滴并与溶酶体融合形成自噬溶酶体，将脂质分解成游离脂肪酸，从而促进肝脏脂质代谢[10]。自噬-溶酶体途径作为细胞的“清道夫”，在维持代谢平衡中发挥关键作用。肝脏脂质过度积累会引起自噬-溶酶体功能紊乱，导致自噬流受阻[11]。功能失调的自噬-溶酶体系统无法及时清除多余脂质及受损细胞器，从而引起脂毒性物质、错误折叠蛋白堆积，触发氧化应激、炎性反应及肝细胞死亡[12]，推动疾病从单纯性脂肪变性向脂肪性肝炎及肝纤维化进展[13]。因此，恢复溶酶体功能与自噬流通畅已成为防治高脂血症的潜在靶点。本研究通过建立高脂饮食诱导的高脂血症模型，旨在从自噬-溶酶体途径探讨电针“丰隆”穴调节高脂血症脂质代谢的作用机制，以期为高脂血症及其他相关代谢性疾病的防治提供新

思路和实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

18只SPF级5周龄雄性SD大鼠，体质量110～120 g，购自湖北省疾病预防控制中心，生产许可证号：SCXK（鄂）2020-0005。大鼠饲养于湖北中医药大学SPF级动物房，环境条件：温度22～25 ℃，相对湿度50%～60%，12 h/12 h明暗周期。适应性喂养3 d后，随机分为空白组（n=6）和造模组（n=12）。所有大鼠均自由摄食饮水。造模组高脂饲料喂养6周后，经血脂检测确认造模成功，将造模组随机分为模型组、电针组，每组6只。实验期间遵循《湖北省实验动物管理条例》，伦理审批号：hucms52016318。

1.2 主要试剂与仪器

TG、TC、LDL-C、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）检测试剂盒（深圳雷杜），微管相关蛋白1轻链3（LC3）抗体、酵母Atg6同源蛋白（Beclin1）抗体、泛素结合蛋白P62（P62）抗体、GAPDH抗体（美国Proteintech），溶酶体相关膜蛋白（LAMP）1抗体、钙网蛋白（Calreticulin）抗体、葡萄糖调节蛋白78（GRP78）抗体（英国Abcam），LAMP2抗体、苏木精（美国Sigma），磷酸化蛋白激酶样内质网激酶（p-PERK）抗体（武汉ABclonal），RIPA裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒（上海碧云天），水溶性伊红Y（国药集团），多聚甲醛（合肥Biosharp），肝脏TC、TG检测试剂盒（北京索莱宝），戊巴比妥钠（上海实验试剂），HRP标记的山羊抗兔IgG二抗、HRP标记的山羊抗小鼠IgG二抗（武汉谷歌生物），Alexa Fluor 594标记的山羊抗小鼠IgG二抗、Alexa Fluor 488标记的山羊抗兔IgG二抗（美国Invitrogen）。

韩氏穴位电针仪（HANS-200A，南京济生），一次性无菌针灸针（0.18 mm×10 mm，吴江云龙），透射电子显微镜（HT7700，日本日立），pH计（LP115，德国Mettler-Toledo GmbH），电子天平（CPA，北京赛多利斯），超声破碎仪（JY92-IIN，宁波新芝），全自动生化分析仪（BK280，山东博科），扫描仪（LiDE110，日本Canon），酶标仪（Epoch，美国BioTek公司），电泳仪电源（DYY-7C）、垂直电泳槽（DYCZ-24DN）、电转仪（DYCZ-40）均购自北京六一仪器厂，水平摇床（TS-1，海门其林贝尔），全功能微孔板检测仪（EnVision XCite 2105，美国PerkinElmer），离心机（HI650，湖南湘仪），凝胶成像系统（ChemiDoc™XRS＋，美国Bio-Rad），光学显微镜（BX53，日本奥林巴斯），激光共聚焦显微镜（TCS SP8，德国Leica），-80 ℃冰箱（8950086v，美国Thermo）。

1.3 造模方法

空白组大鼠予以基础饲料喂养，造模组大鼠予以高脂饲料喂养[14-15]。高脂饲料配方：77%基础饲料，10%猪油，10%蛋黄粉，2%胆固醇和1%胆酸钠。喂养6周后，经眼眶后静脉丛采血检测TG、TC、LDL-C、HDL-C含量，以造模组血脂水平与空白组比较有统计学差异提示模型建立成功[16]。

1.4 干预方法

电针组大鼠予以电针干预，采用自制鼠衣捆绑固定大鼠，选取双侧“丰隆”，位于腓骨中段，约为腓骨小头下7 mm[17]。采用0.18 mm×10 mm一次性无菌针灸针针刺双侧“丰隆”，针刺深度约7 mm，并选取“丰隆”外旁开1 mm进行针刺，同侧两针柄分别连接一对正负电极，接通韩氏穴位神经刺激仪，电刺激选取疏密波，频率2 Hz/100 Hz，强度1 mA，每日1次，每次30 min，每周连续治疗5 d，休息2 d，连续治疗4周。模型组大鼠每天同一时间段进行捆绑，空白组不予以特殊处理。干预期间，空白组维持基础饲料喂养，模型组、电针组继续以高脂饲料喂养。

1.5 观察指标与检测方法

取材：末次干预结束后，大鼠隔夜禁食，腹腔注射2%戊巴比妥钠（0.02 mL/100 g）麻醉。麻醉后，剖腹暴露腹主动脉，采集全血2 mL。血液静置后离心分离血清，吸取上清，于-80 ℃保存备用。取下完整肝脏，滤纸吸干表面水分，称重。剪取部分肝脏组织置于-80 ℃冰箱冻存。另取部分肝脏组织置于4%多聚甲醛和电子显微镜固定液中固定。

血脂四项指标检测：取冻存的血清50 μL，用全自动生化分析仪检测血清TG、TC、LDL-C、HDL-C含量。

计算肝指数：取材前称量大鼠体质量，取出完整肝脏后立即称量肝湿重。按公式肝指数（%）=（肝湿重/体质量）×100%计算肝指数。

采用比色法检测肝脏TG和TC含量：取冻存肝组织0.1 g，按试剂盒说明书操作。乙酰丙酮显色法检测TG含量：将组织加入正庚烷-异丙醇（1∶1）混合液冰浴匀浆，8 000×g、4 ℃离心10 min取上清。取120 μL上清，经试剂处理、65 ℃水浴显色后，于酶

标仪420 nm波长处测定吸光度值。根据标准曲线计算TG浓度，结果以mg/mg prot表示。胆固醇氧化酶法检测TC含量：将肝组织加入异丙醇提取液冰浴匀浆，10 000×g、4 ℃离心10 min取上清。取10 μL上清加入500 μL工作液，37 ℃孵育30 min，于酶标仪500 nm波长处测定吸光度值。根据标准曲线计算TC浓度，结果以μmol/mg prot表示。

肝脏HE染色和油红O染色：取多聚甲醛固定后的肝组织，经梯度乙醇脱水、透明、石蜡包埋后切片(4 μm)。切片脱蜡，苏木精染色5～7 min，1%盐酸乙醇分化2～5 s，水溶性伊红染色2 min。随后经无水乙醇脱水、二甲苯透明，风干后中性树胶封片。取上述切片，4%多聚甲醛固定15 min后水洗。切片经油红O避光染色8～10 min，75%乙醇适度分化，水洗。苏木精复染3～5 min，盐酸乙醇快速分化，氨水返蓝，封片。于光学显微镜下观察肝组织形态及脂质蓄积程度。

透射电子显微镜观察肝脏组织超微结构：取电子显微镜固定液中固定的肝脏组织，进行脱水渗透，包埋聚合等操作后，修块后使用超薄切片机切取70 nm的切片，切片经醋酸铀酰(2%水溶液)和柠檬酸铅双染色各15 min，去离子水漂洗，将切片载于铜网(200目)，晾干后置于透射电子显微镜下观察。选取肝细胞胞质、内质网、自噬结构体等典型结构区域采集图像。

免疫组织化学法检测肝组织LAMP1、LAMP2、GRP78、p-PERK的表达：取上述切片，脱蜡，抗原修复，以3%过氧化氢溶液孵育15 min以阻断内源性过氧化物酶。PBS冲洗后，分别加入一抗LAMP1(1∶200)、LAMP2(1∶100)、GRP78(1∶500)、p-PERK(1∶300)，4 ℃孵育过夜。再经PBS冲洗，加入与一抗种属对应的HRP标记的山羊抗兔IgG(1∶200)、HRP标记的山羊抗小鼠IgG(1∶200)二抗，室温孵育1 h。DAB显色，苏木精复染细胞核1 min，盐酸乙醇分化，氨水返蓝，中性树胶封片。每组检测3只动物的肝组织，每只动物每个指标取1张切片，光学显微镜下每张切片随机取5个200倍视野，观察并采集图像，以黄棕色为阳性表达。Image J软件计算平均阳性表达面积占比。

Western blot法检测大鼠肝组织Beclin1、LC3、P62、GRP78、p-PERK蛋白表达：取冻存的肝组织0.1 g，匀浆后提取总蛋白，BCA法测定其浓度。制胶，上样，经电泳、转膜后封闭1 h，分别加入Beclin1一抗(1∶1 000)、LC3一抗(1∶1 000)、P62一抗(1∶5 000)、GRP78一抗(1∶5 000)、p-PERK一抗(1∶2 000)，4 ℃孵育过夜。洗涤3次后，加入HRP标记的山羊抗兔IgG二抗(1∶5 000)，孵育30 min，洗涤4次，采用ECL法显色。使用Image J软件分析条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达量。

免疫荧光染色法检测LC3、Calreticulin的表达：取上述切片，脱蜡，抗原修复，封闭、加入一抗4 ℃过夜孵育，一抗稀释比例为LC3(1∶500)、Calreticulin(1∶200)，避光条件下加入荧光二抗混合液Alexa Fluor 594标记的山羊抗兔IgG，1∶400，用于LC3，Alexa Fluor 488标记的山羊抗小鼠IgG，1∶400，用于Calreticulin，37 ℃孵育30 min。DAPI染核5 min，PBS漂洗，抗荧光淬灭封片剂封片，避光干燥24 h。激光共聚焦显微镜观察、成像，每张切片随机选取5个200倍视野，用Image J软件计算LC3阳性斑点数量及Calreticulin的平均荧光强度，以各组平均值与空白组平均值的比值(fold change)表示其相对表达量。

1.6 统计学处理

采用GraphPad Prism 9软件进行统计学处理。数据符合正态分布且具有方差齐性，以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析，进一步组间两两比较采用LSD法。以$P\leqslant 0.05$为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 高脂血症模型制备结果

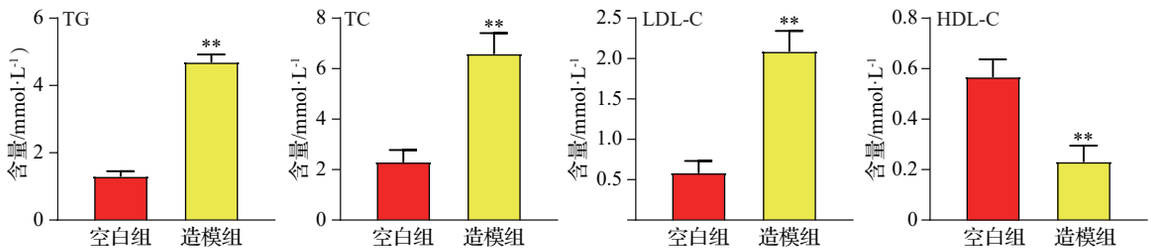
与空白组比较，造模组大鼠血清TG、TC、LDL-C含量升高($P<0.01$)，HDL-C含量下降($P<0.01$)。提示高脂血症模型制备成功。见图1。

2.2 各组大鼠血清TG、TC、LDL-C、HDL-C含量比较

与空白组比较，模型组大鼠血清TG、TC、LDL-C含量升高($P<0.01$)，HDL-C含量降低($P<0.01$)。与模型组比较，电针组大鼠血清TG、TC、LDL-C含量降低($P<0.01$)，HDL-C含量升高($P<0.01$)。见图2。

2.3 各组大鼠肝指数及肝脏TG、TC含量比较

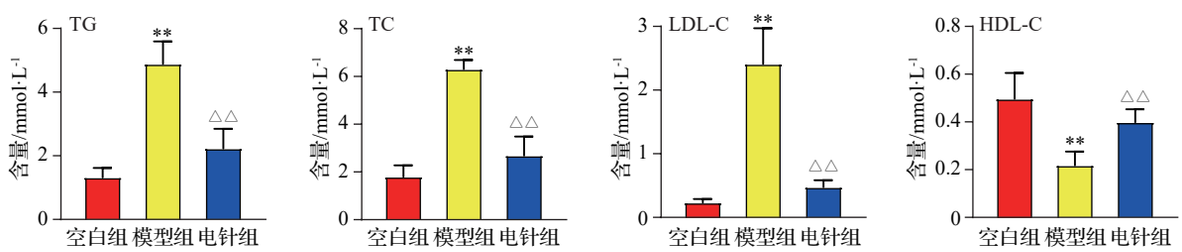
与空白组比较，模型组肝指数及肝脏TG、TC含量升高($P<0.01$)。与模型组比较，电针组肝指数及肝脏TG、TC含量下降($P<0.01$，$P<0.05$)。见图3。



注：TG为三酰甘油、TC为总胆固醇、LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇、HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇。与空白组比较，$^{**}P<0.01$。

图1　各组大鼠造模后血清TG、TC、LDL-C、HDL-C含量比较（$\bar{x}\pm s$，空白组6只鼠，造模组12只鼠）

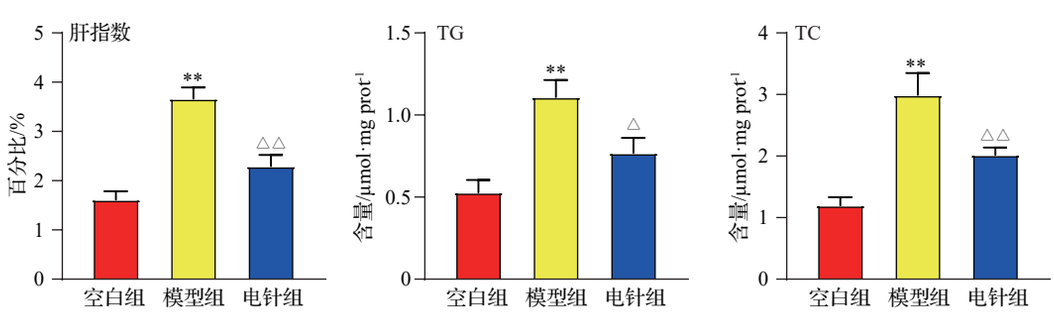
Fig. 1　Comparison of serum TG, TC, LDL-C and HDL-C contents of rats in the 2 groups after model establishment ($\bar{x}\pm s$, 6 rats in the blank group, 12 rats in the modeling group)



注：TG为三酰甘油、TC为总胆固醇、LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇、HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇。与空白组比较，$^{**}P<0.01$；与模型组比较，$^{\triangle\triangle}P<0.01$。

图2　各组大鼠干预后血清TG、TC、LDL-C、HDL-C含量比较（$\bar{x}\pm s$，6只鼠/组）

Fig. 2　Comparison of serum TG, TC, LDL-C, and HDL-C levels of rats in the 3 groups after intervention ($\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)



注：TG为三酰甘油、TC为总胆固醇。与空白组比较，$^{**}P<0.01$；与模型组比较，$^{\triangle}P<0.05$，$^{\triangle\triangle}P<0.01$。

图3　各组大鼠肝指数及肝脏TG、TC含量比较（$\bar{x}\pm s$，6只鼠/组）

Fig. 3　Comparison of hepatic index and liver TG and TC contents of rats in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)

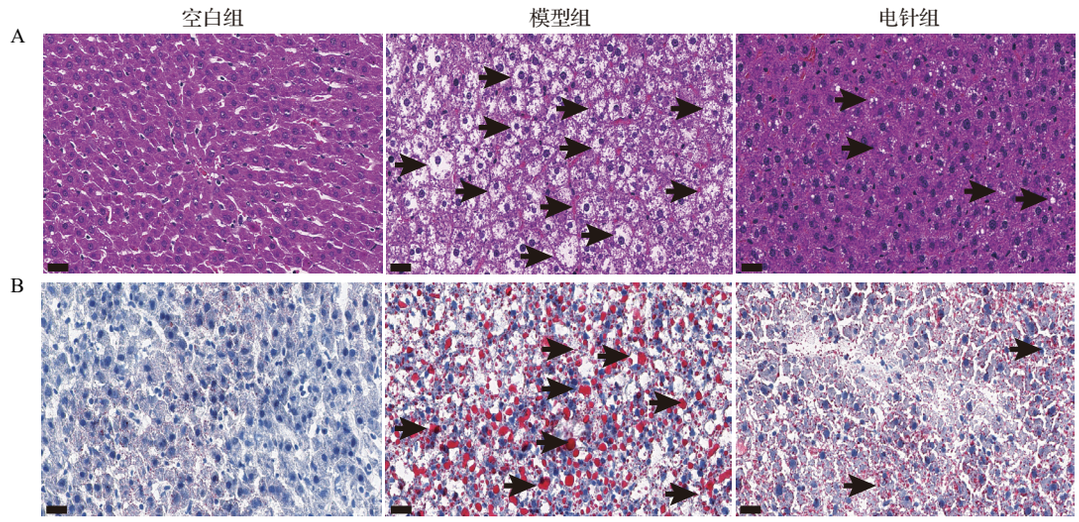
2.4　各组大鼠肝组织病理形态及肝脏脂质沉积情况比较

HE染色显示，空白组大鼠肝组织结构清晰，肝细胞排列规则，细胞核形态正常居中，细胞质内未见明显脂滴。模型组肝细胞排列紊乱，细胞核极性改变，偏向一侧，并呈现大泡性脂肪变性，提示广泛性肝脂肪样变。电针组大鼠肝细胞排列相对规则，细胞核形态接近正常，仅见少量脂滴。见图4A。油红O染色显示，空白组大鼠肝细胞核呈蓝色，胞质内仅见少量淡红色脂滴。模型组大鼠肝细胞质内出现大量弥漫分布的鲜红色脂滴，提示严重脂质蓄积。与模型组比较，电针组大鼠肝细胞内脂滴数量明显减少，仅见少量暗红色脂滴，脂质蓄积改善。见图4B。

2.5　各组大鼠自噬-溶酶体功能比较

超微结构显示，空白组大鼠肝细胞线粒体及内质网等细胞器形态、分布未见异常，自噬小体未见。模型组大鼠肝细胞胞质可见脂滴，线粒体形态异常如肿胀、嵴断裂，粗面内质网明显扩张且排列紊乱，可见少量自噬小体。电针组大鼠肝细胞细胞器形态趋于正常，并可见自噬体数量增多，内含被降解的胞质成分。见图5。

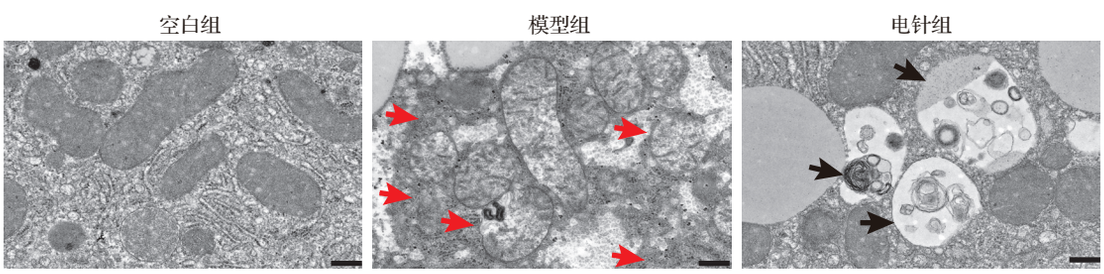
免疫组织化学结果显示，空白组可见较强的棕黄色阳性染色，LAMP1、LAMP2阳性表达面积较



注：A为HE染色，标尺＝20 μm；B为油红O染色，标尺＝20 μm；黑色箭头示脂质蓄积严重处及畸形细胞核。

图4　各组大鼠肝脏组织病理形态及肝脏脂质沉积情况比较

Fig. 4　Comparison of hepatic histopathological morphology and liver lipid deposition of rats in the 3 groups



注：标尺＝1 μm；红色箭头示损伤细胞器；黑色箭头示自噬小体。

图5　各组大鼠肝脏组织超微结构比较（透射电子显微镜）

Fig. 5　Comparison of hepatic ultrastructure of rats in the 3 groups (transmission electron microscope)

大。与空白组比较，模型组阳性染色明显减弱，LAMP1、LAMP2阳性表达显著减少（$P<0.01$）。与模型组比较，电针组阳性染色明显增强，LAMP1、LAMP2阳性表达显著增加（$P<0.01$），接近或达到空白组水平。见图6。

Western blot结果显示，与空白组比较，模型组大鼠肝脏组织Beclin1、膜型微管相关蛋白1轻链3（LC3-Ⅱ）蛋白表达减少，胞型微管相关蛋白1轻链3（LC3-Ⅰ）、P62蛋白表达增加（$P<0.01$）。与模型组比较，电针组大鼠肝脏组织Beclin1、LC3-Ⅱ蛋白表达增加，LC3-Ⅰ、P62蛋白表达减少（$P<0.01$）。见图7。

2.6　各组大鼠肝细胞内质网应激情况比较

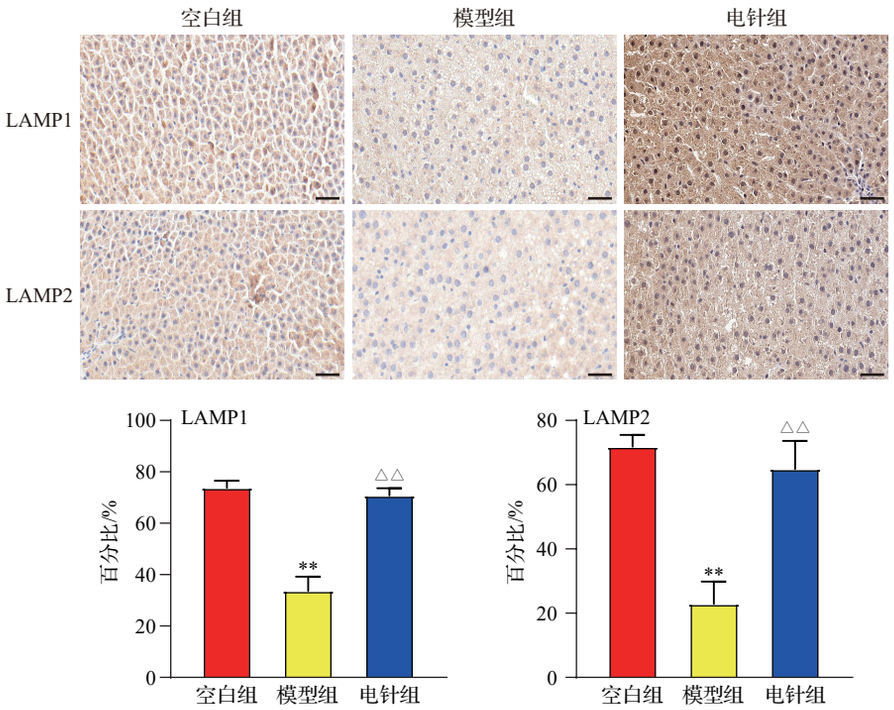
免疫组织化学结果显示，与空白组比较，模型组大鼠肝脏组织GRP78、p-PERK阳性表达增加（$P<0.01$）。与模型组比较，电针组大鼠肝脏组织GRP78、p-PERK阳性表达降低（$P<0.01$）。见图8。

Western blot结果显示，与空白组比较，模型组大鼠肝脏组织GRP78、p-PERK蛋白表达增加（$P<0.01$）。与模型组比较，电针组大鼠肝脏组织GRP78、p-PERK蛋白表达减少（$P<0.05$）。见图9。

免疫荧光结果显示，与空白组比较，模型组肝组织Calreticulin荧光强度显著增强（$P<0.01$），LC3阳性斑点数量显著下降（$P<0.01$）。与模型组比较，电针组肝组织Calreticulin荧光强度明显减弱（$P<0.01$），分布范围减少；LC3荧光斑点数量显著增多（$P<0.05$），且呈现典型的点状或囊泡状分布，提示电针干预后肝细胞自噬通量增强，内质网应激状态改善。见图10。

3　讨论

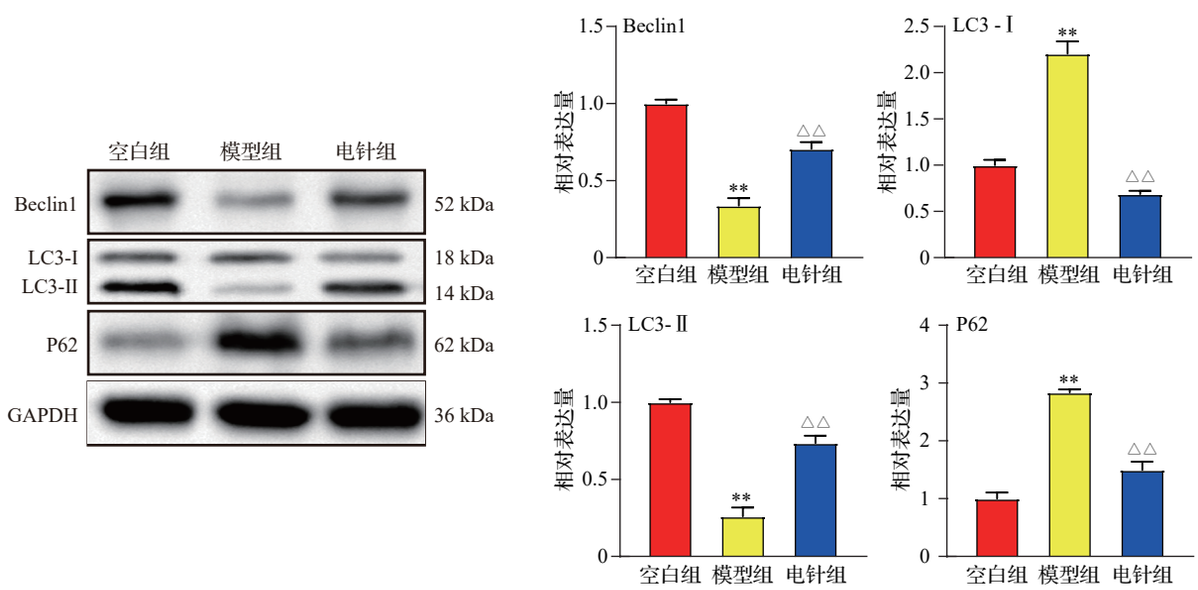
高脂血症是导致心肌梗死、脑卒中等严重心脑血管事件的关键危险因素，其病理基础在于脂质代谢紊乱与肝脏脂质稳态失衡。中医将高脂血症归



注：LAMP1为溶酶体相关膜蛋白1、LAMP2为溶酶体相关膜蛋白2。标尺＝20 μm，棕黄色颗粒状染色定位于细胞质中，为阳性表达。与空白组比较，$^{**}P<0.01$；与模型组比较，$^{\triangle\triangle}P<0.01$。

图6　各组大鼠肝脏LAMP1、LAMP2阳性表达比较（免疫组织化学染色，$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）

Fig. 6　Comparison of hepatic positive expressions of LAMP1 and LAMP2 of rats in the 3 groups (immunohistochemistry, $\bar{x}\pm s$, 3 rats/group)

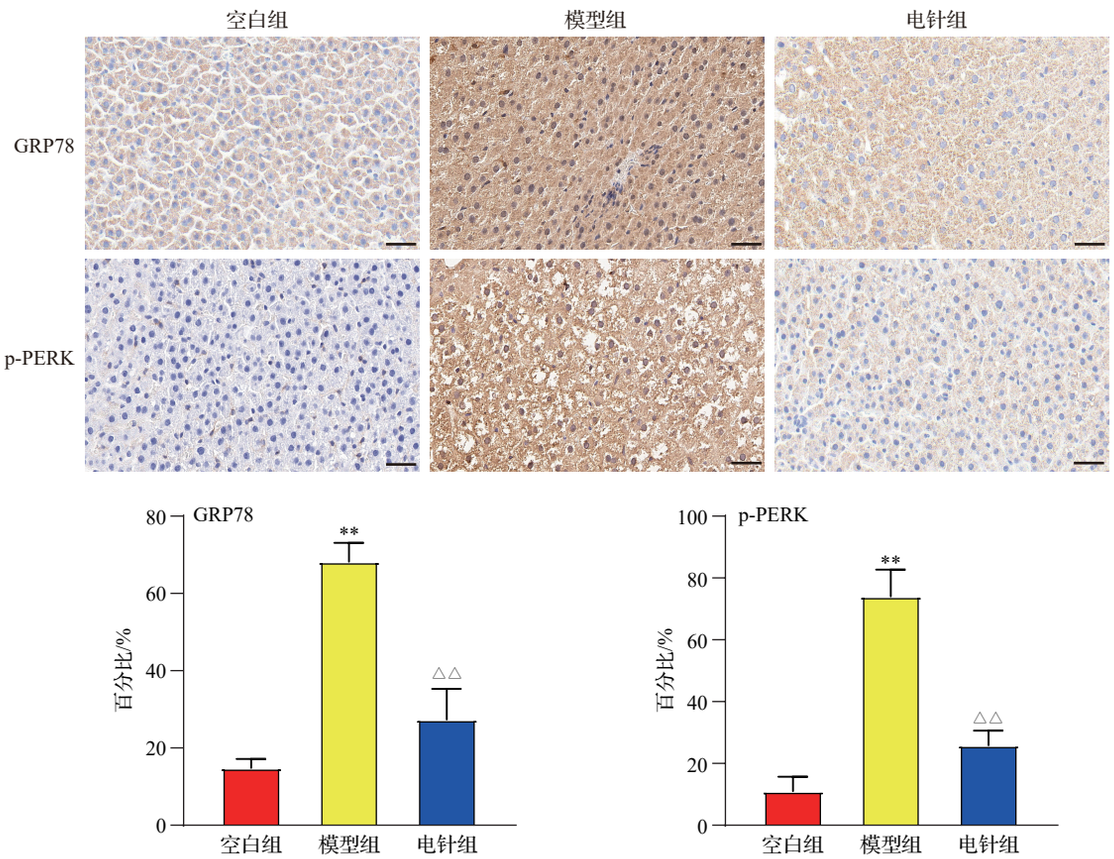


注：Beclin1为酵母Atg6同源蛋白，LC3-Ⅰ为胞型微管相关蛋白1轻链3、LC3-Ⅱ为膜型微管相关蛋白1轻链3，P62为泛素结合蛋白P62。与空白组比较，$^{**}P<0.01$；与模型组比较，$^{\triangle\triangle}P<0.01$。

图7　各组大鼠肝脏组织Beclin1、LC3-I、LC3-II、P62蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）

Fig. 7　Comparison of hepatic protein expressions of Beclin1, LC3-I, LC3-II, and P62 of rats in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 3 rats/group)

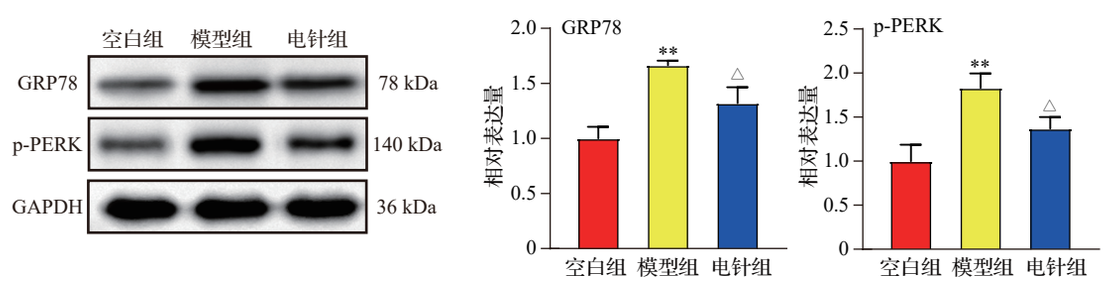
属为“痰浊”范畴，病机责之于脾失健运，痰湿内生，治疗强调“健脾化痰、和胃降浊”。丰隆作为足阳明胃经络穴，被历代医籍誉为“化痰要穴”，《针灸甲乙经》载其“主湿痹厥逆”，提示其在调节水湿痰浊代谢中的独特价值。现代研究表明，刺激“丰隆”可调节脂蛋白脂酶、激素敏感性三酰甘油脂肪酶等关键



注：GRP78为葡萄糖调节蛋白78，p-PERK为磷酸化蛋白激酶样内质网激酶。标尺＝20 μm。棕黄色颗粒状染色定位于细胞质中，为阳性表达。与空白组比较，$^{**}P<0.01$；与模型组比较，$^{\triangle\triangle}P<0.01$。

图8　各组大鼠肝脏GRP78、p-PERK阳性表达比较（免疫组织化学染色，$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）

Fig. 8　Comparison of hepatic positive expressions of GRP78 and p-PERK of rats in the 3 groups (immunohistochemistry, $\bar{x}\pm s$, 3 rats/group)



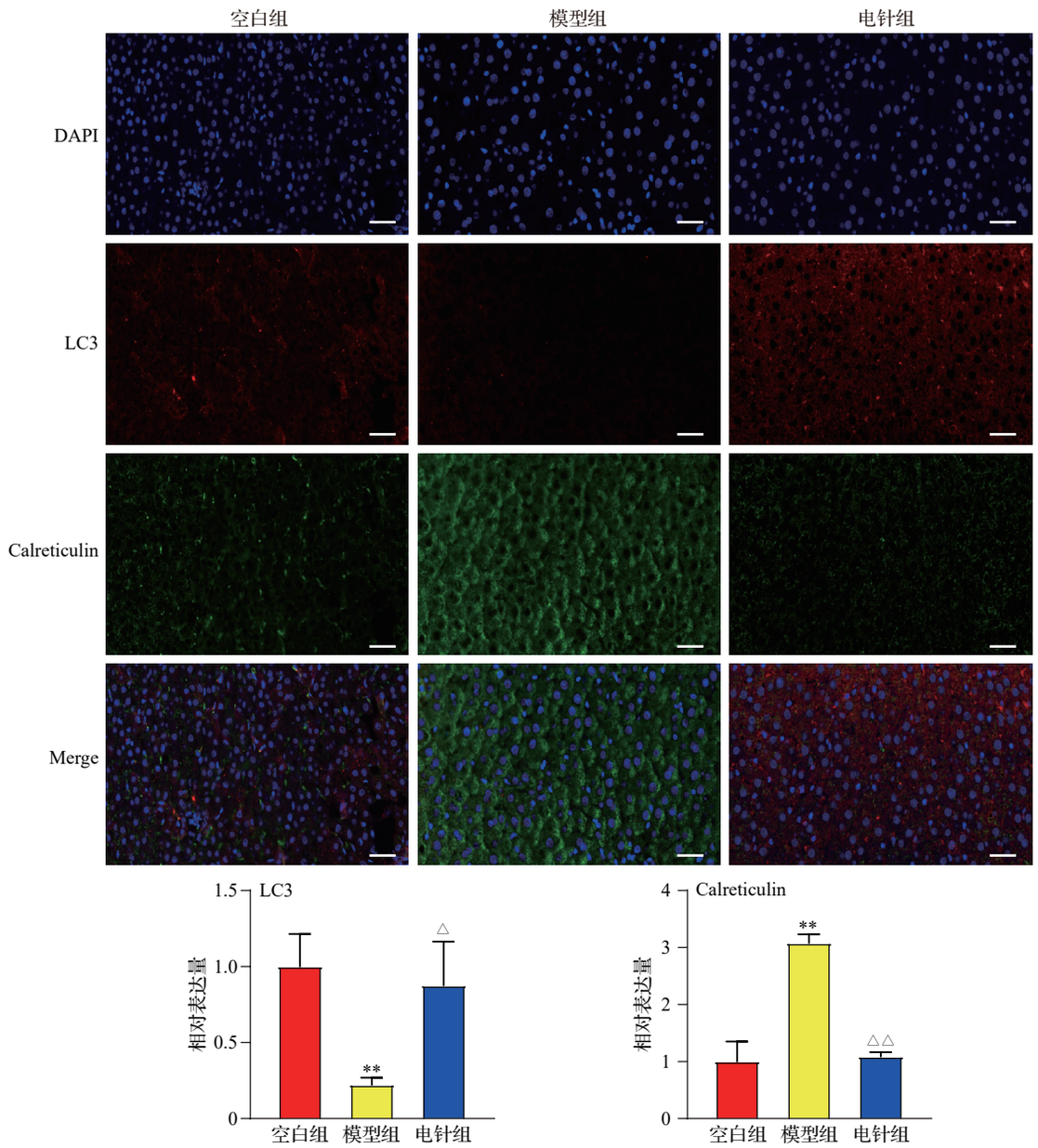
注：GRP78为葡萄糖调节蛋白78，p-PERK为磷酸化蛋白激酶样内质网激酶。与空白组比较，$^{**}P<0.01$；与模型组比较，$^{\triangle}P<0.05$。

图9　各组大鼠肝脏组织GRP78、p-PERK蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）

Fig. 9　Comparison of hepatic protein expressions of GRP78 and p-PERK of rats in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 3 rats/group)

脂代谢酶活性，并影响肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-6等炎性因子水平[18-19]。然而，其深层分子机制尚未完全阐明。2025年发布的《针灸科学研究行动计划》明确提出，应围绕针灸调控的系统生物学规律探索开展深入研究，强调运用神经-内分泌-免疫-代谢互作网络的前沿视角，从微观-介观-宏观多层次解析针灸调节机体稳态的机制[20]。该计划还指出，需要开展针灸效应关键变量的量化研究，并促进临床研究和基础研究的相互转化，以阐明针灸作用的科学内涵。本研究正是基于这一宏观指引，从自噬-溶酶体途径这一细胞稳态调控的核心机制切入，通过系统分析电针“丰隆”如何修复溶酶体功能、重启受阻自噬流、缓解内质网应激，旨在为针灸防治代谢性疾病的系统生物学机制提供新的实验依据。

自噬是细胞清除脂滴、受损细胞器及错误折叠蛋白的核心途径，其功能的实现依赖于自噬体形



注：LC3为微管相关蛋白1轻链3，Calreticulin为钙网蛋白。上图为LC3（红色）和Calreticulin（绿色）免疫荧光染色代表性图片，标尺＝20 μm，Merge为多通道叠加图，用于显示信号分布及核定位，不作为共定位结论依据。下图为LC3阳性斑点数量定量分析（以fold change表示，相对于空白组的倍数变化）、Calreticulin平均荧光强度定量分析（以fold change表示，相对于空白组的倍数变化）。与空白组比较，$^{**}P<0.01$；与模型组比较，$^{\triangle}P<0.05$，$^{\triangle\triangle}P<0.01$。

图10　各组大鼠肝脏LC3、Calreticulin表达比较（$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）

Fig. 10　Comparison of hepatic expressions of LC3 and Calreticulin of rats in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 3 rats/group)

成、自噬体与溶酶体的融合及溶酶体降解能力的协同作用[21]。Beclin1作为自噬启动的关键蛋白，负责募集其他自噬相关蛋白至吞噬泡[22]。LC3-Ⅱ作为自噬体膜的标志物，其表达水平直接反映了自噬体的数量及自噬活性[23-24]。P62作为选择性自噬底物，通过与LC3相互作用被募集至自噬体并最终在自噬溶酶体中降解，其积累是自噬流受阻的经典标志[25]。LAMP1和LAMP2在维持溶酶体膜完整性、介导自噬体-溶酶体融合中至关重要，LAMP1不仅参与膜结构稳态调节，还调控自噬囊泡降解及脂质转运[26-27]。LAMP2缺失则与自噬流中断及脂滴蓄积密切相关[28]。高脂饮食诱导的模型组呈现LAMP1/2下调、Beclin1和LC3-Ⅱ降低、P62积累，伴随透射电子显微镜下自噬结构少见及细胞器损伤，提示自噬流受阻的关键节点在于溶酶体功能障碍所致的自噬体-溶酶体融合障碍。电针干预后，

LAMP1/2表达恢复、自噬体增多、P62降解，表明电针通过修复溶酶体功能、重启受阻自噬流，促进了脂滴及受损细胞器的清除。

研究表明，溶酶体功能失调不仅直接阻碍自噬降解，还会通过堆积的错误折叠蛋白和受损细胞器诱发内质网应激（ERS）[29-30]。ERS是细胞应对内质网蛋白质折叠负荷过重的适应性反应，但当ERS持续存在时，可通过未折叠蛋白反应（UPR）的多条通路干扰脂质代谢，加剧肝脏脂质沉积[31-32]。GRP78作为ERS的标志分子，在静息状态下与PERK等UPR感受蛋白结合，ERS发生时与之解离并启动下游信号[33]。Calreticulin是内质网腔内重要的分子伴侣蛋白，其表达变化反映了内质网蛋白质折叠负荷的状态[34]，本研究中模型组GRP78、p-PERK上调及Calreticulin荧光增强，提示持续ERS参与了高脂血症肝损伤的病理进程。电针干预后上述ERS标志物显著回落，且与自噬流恢复同步发生，提示电针可能通过清除ERS的诱发因素即堆积的自噬底物和受损细胞器，间接缓解了ERS。

综合自噬-溶酶体途径及ERS相关指标的同步改变，提示电针“丰隆”可能通过改善自噬-溶酶体功能恢复受阻自噬流，清除脂滴及受损的细胞器，这一过程消除了ERS持续诱发因素，使GRP78/p-PERK信号回归静息状态，内质网蛋白质折叠负荷减轻，最终打破“自噬障碍-ERS”的恶性循环，实现肝脏脂质稳态的重建。

本研究也存在一定局限性。首先，虽然观察到自噬-溶酶体途径与ERS指标的同步变化，但二者间的直接因果关系尚未通过特异性激动剂（如雷帕霉素）或抑制剂（如氯喹、4-苯基丁酸）进行反向验证。其次，本研究聚焦于“丰隆”单穴，未设置非经非穴或其他穴位对照，以明确其效应的相对特异性。此外，电针参数（频率、强度、疗程）的优化选择及其与疗效的量效规律，有待后续系统研究。未来将结合特异性激动剂、抑制剂及体外细胞模型等深入探究电针调控自噬与ERS对话的分子开关，为针灸防治代谢性疾病提供更精准的科学依据。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

[1] 国家心血管病中心，中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告2024概要[J]. 中国循环杂志，2025，40(6)：521-559.
National Center for Cardiovascular Diseases, Writing Group of the China Cardiovascular Health and Disease Report. Report on cardiovascular health and diseases in China 2024: an updated summary (in Chinese)[J]. Chinese Circulation Journal, 2025, 40(6): 521-559.

[2] Grundy S M, Stone N J, Bailey A L, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines[J]. Circulation, 2019, 139(25): e1082-e1143.

[3] World Health Organization. WHO guidelines on use of therapeutic massage and acupuncture for pain management [R]. Geneva: WHO; 2023.

[4] 中国血脂管理指南修订联合专家委员会. 中国血脂管理指南（2023年）[J]. 中华心血管病杂志，2023，51(03)：221-255.
Joint Committee for the Revision of Chinese Guidlines for Lipid Management. Chinese guidelines for lipid management (2023) (in Chinese)[J]. Chinese Journal of Cardiology, 2023, 51(3): 221-255.

[5] 余敏，李钢，唐成林，等. 电针“丰隆”穴对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织固醇调节元件结合蛋白-1 c的影响[J]. 针刺研究，2017，42(4)：308-314.
Yu M, Li G, Tang C L, et al. Effect of electroacupunctrue stimulation at “Fenglong” (ST 40) on expression of SREBP-1 c in non-alcoholic fatty liver disease rats (in Chinese)[J]. Acupuncture Research, 2017, 42(4): 308-314.

[6] 李海燕，徐芬，马朝阳. 基于“标本配穴”理论针灸干预疗法对单纯性肥胖患者血脂水平及胰岛素抵抗的影响[J]. 中华中医药学刊，2019，37(1)：49-52.
Li H Y, Xu F, Ma C Y. Influence of acupuncure intervening blood lipid and insulin resistance of simple obese patients based on Biao-Ben points compatibility (in Chinese)[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2019, 37(1): 49-52.

[7] 胡馨月，罗亚，祖芳，等. 电针“丰隆”“足三里”对非酒精性脂肪肝大鼠SIRT1/FOXO1信号通路的影响[J]. 针刺研究，2025，50(2)：150-158.
Hu X Y, Luo Y, Zu F, et al. Effects of electroacupuncture at “Fenglong” (ST40) and “Zusanli” (ST36) on the SIRT1/FOXO1 signaling pathway in non-alcoholic fatty liver disease model rats (in Chinese)[J]. Acupuncture Research, 2025, 50(2): 150-158.

[8] Wang Y, Du J, Wu X M, et al. Crosstalk between autophagy and microbiota in cancer progression[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 163.

[9] 张英溶，周仲瑜，夏郡妮，等. 基于AMPK/mTOR/ULK1通路探讨电针对肥胖小鼠肝脏自噬的影响[J/OL]. 针刺研究，1-17[2026-01-12]. https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.20250909.
Zhang Y R, Zhou Z Y, Xia J N, et al. Effect of electroacupuncture on hepatic autophagy in obese mice based on AMPK/mTOR/ULK1 pathway (in Chinese)[J/OL]. Acupuncture Research, 1-17 [2026-01-12]. https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.20250909.

[10] 孙艳梅，贾连群，张妮，等. 化瘀祛痰方对高脂血症大鼠肝脏mTOR介导自噬相关基因的影响[J]. 中华中医药学刊，2017，35(12)：3143-3146.
Sun Y M, Jia L Q, Zhang N, et al. Effect of Huayu qutan recipe on liver mediated autophagy related gene mTOR in hyperlipidemia rats (in Chinese)[J]. Chinese Archives of

Traditional Chinese Medicine, 2017, 35(12): 3143-3146.

[11] You Y, Bao W L, Zhang S L, et al. Sorting nexin 10 mediates metabolic reprogramming of macrophages in atherosclerosis through the lyn-dependent TFEB signaling pathway[J]. Circ Res, 2020, 127(4): 534-549.

[12] Tan A, Prasad R, Lee C, et al. Past, present, and future perspectives of transcription factor EB (TFEB): mechanisms of regulation and association with disease [J]. Cell Death Differ, 2022, 29(8): 1433-1449.

[13] 贺平一, 李琳丹, 张悦, 等. 补肾降脂方调控TFEB-自噬-溶酶体途径干预ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化的机制[J]. 中华中医药杂志, 2025, 40(2): 630-635.
He P Y, Li L D, Zhang Y, et al. Mechanism on Bushen Jiangzhi Formula in regulating TFEB-autophagy-lysosome pathway on atherosclerosis in ApoE$^{-/-}$mice (in Chinese)[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2025, 40(2): 630-635.

[14] 宋琪, 马于巽, 张艳贞, 等. 基于血脂数据变化的实验性高脂血症动物模型制备[J]. 中国公共卫生, 2020, 36(11): 1566-1573.
Song Q, Ma Y X, Zhang Y Z, et al. Establishment of blood lipids variation-based experimental hyperlipidemia animal model: a review (in Chinese)[J]. Chinese Journal of Public Health, 2020, 36(11): 1566-1573.

[15] 赵金明, 朱竞赫, 陈贺, 等. 不同配方高脂乳剂大鼠高脂血症模型的研究[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 177-180.
Zhao J M, Zhu J H, Chen H, et al. Study of hyperlipidemia model in rats on different fat emulsion (in Chinese)[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2012, 28(1): 177-180.

[16] 胡慧明, 朱彦陈, 朱巧巧, 等. 实验性高脂血症动物模型比较分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(20): 3709-3714.
Hu H M, Zhu Y C, Zhu Q Q, et al. Analysis on animal models of experimental hyperlipidemia (in Chinese)[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(20): 3709-3714.

[17] 余曙光, 郭义. 实验针灸学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 150.
Yu S G, Guo Y. Experimental acupuncturology (in Chinese)[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2009: 150.

[18] 严江天, 曾林, 唐倩, 等. "标本配穴"电针调控脂肪组织自噬改善肥胖大鼠炎症[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(3): 744-747.
Yan J T, Zeng L, Tang Q, et al. Electroacupunture of "Biaoben acupoints" improve inflammation in obese rats by regu-lating autophagy in adipse tissue (in Chinese)[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2023, 34(3): 744-747.

[19] 战慧敏. 刺络泻血对高脂血症模型大鼠血脂、脂代谢酶及NO、ET-1的影响[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
Zhan H M. Effects of pricking bloodletting on blood lipids, lipid metabolic enzymes, NO and eET-1 in hyperlipidemia model rats (in Chinese)[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2017.

[20] 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.

[21] Skeyni A, Pradignac A, Matz R L, et al. Cholesterol trafficking, lysosomal function, and atherosclerosis[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2024, 326(2): C473-C486.

[22] 朱涛, 李洁, 万红叶, 等. "夹脊"电针调控PI3K/AKT/mTOR信号通路减轻过敏性哮喘大鼠气道炎性反应的机制研究[J]. 针刺研究, 2025, 50(6): 666-674.
Zhu T, Li J, Wan H Y, et al. Electroacupuncture of "Jiaji" (EX-B2) improves asthma by reducing airway inflammation and regulating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in rats with allergic asthma (in Chinese)[J]. Acupuncture Research, 2025, 50(6): 666-674.

[23] Runwal G, Stamatakou E, Siddiqi F H, et al. LC3-positive structures are prominent in autophagy-deficient cells[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 10147.

[24] Peña-Martinez C, Rickman A D, Heckmann B L. Beyond autophagy: LC3-associated phagocytosis and endocytosis[J]. Sci Adv, 2022, 8(43): eabn1702.

[25] Filali-Mouncef Y, Hunter C, Roccio F, et al. The ménage à trois of autophagy, lipid droplets and liver disease [J]. Autophagy, 2022, 18(1): 50-72.

[26] Singhal A, Szente L, Hildreth J E K, et al. Hydroxypropyl-beta and-gamma cyclodextrins rescue cholesterol accumulation in Niemann-Pick C1 mutant cell *via* lysosome-associated membrane protein 1[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(10): 1019.

[27] Refaai R, Fouda S, Hefni D M, et al. Hypermethylation of lysosomal-associated genes LAMP1 and LAMP2 compromises lysosome function in patients with acute lymphoblastic leukemia[J]. Immunol Res, 2025, 73(1): 167.

[28] Shao R J, Liu W Z, Feng Y X, et al. LAMP2-FLOT2 interaction enhances autophagosome-lysosome fusion to protect the septic heart in response to ILC2[J]. Autophagy, 2025, 21(9): 1888-1910.

[29] Senft D, Ronai Z A. UPR, autophagy, and mitochondria crosstalk underlies the ER stress response [J]. Trends Biochem Sci, 2015, 40(3): 141-148.

[30] Cheng Y, Rao P, Li S J, et al. Alcohol promotes hepatocyte injury *via* ER stress sensor XBP1s mediated regulation of autophagy and lysosomal activity [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2024, 492: 117117.

[31] Qian H H, Zhao Y M, Wang Y M, et al. ATR induces hepatic lipid metabolism disorder in rats by activating IRE1α/XBP1 signaling pathway[J]. Toxicology, 2024, 501: 153696.

[32] Ueno T, Komatsu M. Autophagy in the liver: functions in health and disease[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017, 14(3): 170-184.

[33] Bakirhan E G, Yanilmaz E M B, Tüfekci K K, et al. Maternal high-fat diet impairs cognitive performance by altering hippocampal GRP78/PERK axis and BDNF expression in adult female rat offspring: the potential protective role of N acetylcysteine[J]. J Mol Histol, 2025, 56(3): 189.

[34] Liu M Y, Li S, Yin M, et al. Pinacidil ameliorates cardiac microvascular ischemia-reperfusion injury by inhibiting chaperone-mediated autophagy of calreticulin [J]. Basic Res Cardiol, 2024, 119(1): 113-131.

收稿日期:2026-01-13 修回日期:2026-02-25