

☆ XXXX ☆

基于谷氨酸介导突触长时程增强探究电针“足三里”改善功能性消化不良大鼠内脏高敏感的作用机制

陈天勤¹, 荣培晶², 刘继东¹, 王杰^{1,3}, 胡哲⁴, 马俊杰⁴, 王天朗¹, 李晓璐¹, 栾琦丹¹,
王蕊¹, 刘安柠⁵, 王树东⁴, 董佳梓¹

(¹辽宁中医药大学针灸推拿学院, 沈阳110847; ²中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京100700; ³辽宁省针灸养生康复重点实验室, 沈阳110847; ⁴辽宁中医药大学养生康复学院, 沈阳110847; ⁵辽宁中医药大学第三临床学院, 沈阳110847)

【摘要】目的:观察电针“足三里”对功能性消化不良(FD)大鼠谷氨酸转运体及突触前后相关蛋白表达的影响,探究电针通过调控突触长时程增强进而改善FD的作用机制。**方法:**选用10日龄雄性SD大鼠,随机分为正常组、模型组、电针组、西药组和电针+激动剂组,每组15只。采用碘乙酰胺联合夹鼠尾法制备FD大鼠模型。电针组于双侧“足三里”进行电针干预,1次/d,连续14 d。西药组予伊托必利溶液(15.6 mg/kg)灌胃,1次/d,连续14 d。电针+激动剂组于造模后鞘内注射N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)激动剂NMDA,每次0.147 μg/10 μL,1次/d,连续3 d,最后一次鞘内注射30 min后进行电针干预,具体操作同电针组。观察大鼠一般状态,测量大鼠体质量;采用胃内球囊容积/压力(mL/mmHg)变化、腹部撤退反射(AWR)评分评价大鼠内脏顺应性和敏感性;HE染色观察大鼠胃和十二指肠黏膜病理变化;采用液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)技术检测氨基酸代谢谱筛选大鼠脊髓差异代谢物及其表达;Western blot和RT-qPCR法检测大鼠脊髓组织Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的蛋白及mRNA表达水平。**结果:**与正常组相比,模型组大鼠毛发枯乱、精神萎靡、粪便稀溏,体质量降低($P<0.05$),胃顺应性降低($P<0.05$, $P<0.01$),AWR评分升高($P<0.05$, $P<0.01$),胃和十二指肠组织出现显著炎性浸润并伴有形态结构异常,脊髓组织Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1蛋白及mRNA表达升高($P<0.01$)。代谢组学分析结果显示谷氨酸是FD大鼠脊髓代谢紊乱中的关键差异代谢物,与正常组相比,模型组大鼠脊髓谷氨酸含量升高($P<0.01$)。与模型组相比,电针组和西药组大鼠一般状态改善,胃和十二指肠黏膜炎性渗出减少、形态结构相对完好,其余指标均逆转($P<0.05$, $P<0.01$)。与电针组相比,电针+激动剂组大鼠一般状态稍差,体质量降低($P<0.05$),胃顺应性降低($P<0.05$),AWR评分升高($P<0.05$, $P<0.01$),胃和十二指肠组织病理情况仍存在部分炎性损伤表现,脊髓组织中Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2蛋白相对表达量升高($P<0.05$, $P<0.01$),Synaptophysin、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的mRNA表达量升高($P<0.05$)。**结论:**电针“足三里”可能是通过调控脊髓谷氨酸转运及突触前后相关蛋白,抑制突触长时程增强,进而改善FD大鼠内脏高敏感症状。

【关键词】 功能性消化不良;内脏高敏感;电针;谷氨酸;长时程增强

Mechanism of electroacupuncture at “Zusanli” (ST36) in improving visceral hypersensitivity in rats with functional dyspepsia based on glutamate-mediated synaptic long-term potentiation

Chen Tianqin¹, Rong Peijing², Liu Jidong¹, Wang Jie^{1,3}, Hu Zhe⁴, Ma Junjie⁴, Wang Tianlang¹, Li Xiaolu¹, Luan Qidan¹, Wang Rui¹, Liu Anning⁵, Wang Shudong⁴, Dong Jiazi¹ (¹College of Acupuncture and Moxibustion, Liaoning University of Chinese

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20260178

引用格式:陈天勤,荣培晶,刘继东,等.基于谷氨酸介导突触长时程增强探究电针“足三里”改善功能性消化不良大鼠内脏高敏感的作用机制[J].针刺研究,XXXX,XX(X):1-14.

项目来源:国家自然科学基金面上项目(No.82474634);辽宁省重点研发项目(No.2024JH2/102500047);辽宁省教育厅面上项目(No. JYTMS20231816);辽宁省教育厅基本科研项目(No.LJKZ0886)

通信作者:董佳梓, E-mail:260979604@qq.com;王树东, E-mail:869385191@qq.com

Medicine, Shenyang 110847, China; ²Institute of Basic Research in Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700; ³Key Laboratory of Acupuncture and Moxibustion Health and Rehabilitation in Liaoning Province, Shenyang 110847; ⁴College of Health Preservation and Rehabilitation, Liaoning University of Chinese Medicine, Shenyang 110847; ⁵Third Clinical College, Liaoning University of Chinese Medicine, Shenyang 110847)

【ABSTRACT】 Objective To observe the effects of electroacupuncture (EA) at “Zusanli” (ST36) on the expression of glutamate transporters and pre- and post-synaptic-related proteins in rats with functional dyspepsia (FD), so as to explore the mechanism by which EA improves FD through the regulation of synaptic long-term potentiation.

Methods Ten-day-old male SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, an EA group, a western medication group, and an EA + agonist group, with 15 rats in each group. The FD rat model was established by iodoacetamide combined with tail clamping. Rats in the EA group received EA intervention at bilateral ST36, once daily for 14 consecutive days. Rats in the western medication group were administered itopride solution (15.6 mg/kg) by gavage, once daily for 14 consecutive days. Rats in the EA + agonist group were intrathecally injected with the N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) agonist NMDA after modeling, 0.147 μg/10 μL each time, once daily for 3 consecutive days; EA intervention was performed 30 min after the last intrathecal injection, with the specific procedures identical to those in the EA group. The general state of the rats was observed, and body mass was measured. The changes in gastric balloon volume/pressure (mL/mmHg) and abdominal withdrawal reflex (AWR) score were used to evaluate visceral compliance and sensitivity. HE staining was used to observe the pathological changes in the gastric and duodenal mucosa. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to detect the amino acid metabolic profile and screen for differential metabolites and their expression in the rat spinal cord. Western blot and RT-qPCR were used to detect the protein and mRNA expression levels of Synaptophysin, PSD95, VGLUT1, VGLUT2, and NMDAR1 in rat spinal cord tissue. **Results** Compared with the normal group, rats in the model group showed dull and disheveled hair, listlessness, decreased loose stools; body mass ($P<0.05$); reduced gastric compliance ($P<0.05$, $P<0.01$); increased AWR score ($P<0.05$, $P<0.01$); significant inflammatory infiltration accompanied by abnormal morphological structure of the gastric and duodenal tissues; and increased protein and mRNA expression of Synaptophysin, PSD95, VGLUT1, VGLUT2, and NMDAR1 in spinal cord tissue ($P<0.01$). Metabolomic analysis results showed that glutamate was a key differential metabolite in spinal cord metabolic disorder in FD rats; compared with the normal group, the glutamate content in the spinal cord of rats in the model group was increased ($P<0.01$). Compared with the model group, rats in the EA group and western medication group showed improvement in general state, reduced inflammatory exudation and relatively intact morphological structure in the gastric and duodenal mucosa, and all other indicators were reversed ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the EA group, rats in the EA + agonist group showed a slightly poorer general state, decreased body mass ($P<0.05$), reduced gastric compliance ($P<0.05$), increased AWR score ($P<0.05$, $P<0.01$), residual partial inflammatory injury in the gastric and duodenal histopathology, increased relative protein expression of Synaptophysin, PSD95, VGLUT1, and VGLUT2 in spinal cord tissue ($P<0.05$, $P<0.01$), and increased mRNA expression of Synaptophysin, VGLUT1, VGLUT2, and NMDAR1 ($P<0.05$). **Conclusion** EA at ST36 may improve visceral hypersensitivity symptoms in FD rats by regulating spinal glutamate transport and pre- and post-synaptic-related proteins, thereby inhibiting synaptic long-term potentiation.

【KEYWORDS】 Functional dyspepsia; Visceral hypersensitivity; Electroacupuncture; Glutamate; Long-term potentiation

功能性消化不良(FD)是一种常见的功能性胃肠疾病,多以上腹疼痛、饱胀、早饱感为主要临床症状^[1]。流行病学调查结果显示,FD全球患病率为7.2%,且发病趋势逐年上升^[2]。符合FD症状的临床患者就医行为频繁,严重影响其生活质量。

根据罗马Ⅳ诊断标准,功能性胃肠病症状的产生与内脏高敏感等因素密切相关^[3]。内脏高敏感是指内脏器官对各类刺激的适应阈值降低、感受性增

强,产生痛觉过敏和痛觉异常的病理现象,也是FD的核心发病机制^[4]。突触可塑性是指在不同环境刺激下突触的功能结构发生适应性改变的过程,伴随着突触标志物突触素(Synaptophysin)和突触后致密蛋白95(PSD95)的变化^[5-6]。当突触神经元对伤害性疼痛信息处理增强,产生持续长时间的突触传递效率增加,呈现兴奋性传递即为长时程增强(LTP)^[7]。LTP是突触可塑性的重要表现形式,其

大多数兴奋性传递是依赖谷氨酸受体介导的。谷氨酸作为中枢神经系统的兴奋性神经递质,其释放过程由囊泡谷氨酸转运蛋白1(VGLUT1)和囊泡谷氨酸转运蛋白2(VGLUT2)介导,二者可促进突触前膜囊泡内的谷氨酸释放至突触间隙,进而与突触后膜的N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)结合,激活下游信号通路并诱导突触LTP^[8],在内脏高敏感的形成过程中发挥关键作用。

目前临床治疗FD以神经调节药物疗法为主^[9],虽然起效快速明显,但容易产生不良反应,存在一定局限性。近年研究显示,针灸治疗FD效果显著,不良反应小,且能有效调节胃肠功能^[10-11]。足三里作为足阳明胃经之要穴,具有调理脾胃、扶正培元的功效,广泛应用于各类脾胃病证的防治。故本研究拟基于谷氨酸转运介导突触长时程增强,探究电针“足三里”对FD模型大鼠内脏高敏感症状的干预作用机制,为临床针灸治疗FD提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

75只SPF级10d龄雄性SD大鼠,体质量(15±3)g,由辽宁长生生物技术有限公司提供,生产许可证号:SCXK(辽)2025-0002。饲养于辽宁中医药大学实验动物中心,饲养环境为室温(22±1)℃,湿度(45±5)%。采用随机数字表法将大鼠随机分为正常组、模型组、电针组、西药组、电针+激动剂组,每组15只。实验全程操作及动物处置符合中华人民共和国科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》及相关伦理规定^[12],并通过辽宁中医药大学实验动物伦理委员会审批(伦理审查编号:21000062024086)。

1.2 主要仪器和试剂

华佗牌一次性无菌针灸针(0.16 mm×7 mm)、CMNS6-2型电子针灸治疗仪(无锡佳健),石蜡切片机(德国Leica),光学显微镜(日本OLYMPUS),八通道电生理记录仪(澳大利亚AD Instruments),电泳仪、转膜仪(武汉赛维尔),冷CCD凝胶成像系统(美国GE healthcare),实时荧光定量PCR仪(上海力康),电子天平(成都泰盟),小动物麻醉机(北京众实迪创),液相色谱串联质谱仪(SCIEX)。

异氟烷(北京EZVET),碘乙酰胺(上海源叶),盐酸伊托必利片(辽宁新高),NMDAR激动剂N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA,美国Selleck),BCA蛋白定量试剂盒(上海碧云天),Synaptophysin一抗、

PSD95一抗、VGLUT1一抗、VGLUT2一抗、NMDAR1一抗、GAPDH一抗、HRP标记山羊抗兔二抗(武汉三鹰),Trizol(美国赛默飞),反转录试剂盒、实时荧光定量PCR试剂盒(日本Takara),色谱级甲醇(德国Merck),色谱级乙腈(上海星可),色谱级甲酸(美国Sigma-Aldrich)。

1.3 造模方法

采用碘乙酰胺联合夹鼠尾法制备大鼠FD模型^[13-14]。除正常组外,其余组10日龄幼年大鼠每日灌胃0.2 mL含0.1%碘乙酰胺的2%蔗糖溶液,1次/d,持续7d。待大鼠到10周龄,使用纱布缠绕的血管钳夹持大鼠尾后靠近远心端1/3处,以不破皮为度,令其暴怒、尖叫、挑衅或与同笼其他大鼠相互厮打,每次30 min,1次/d,持续14d。造模大鼠出现摄食饮水量降低,体质量增长缓慢,毛发枯槁杂乱,活跃程度减弱,抓捕反应迟钝,情绪抑郁,粪便稀溏,提示造模成功^[15]。

1.4 干预措施

电针组:在造模结束2d后,予电针大鼠双侧“足三里”。造模结束后,将大鼠固定于鼠架上暴露后肢,局部皮肤用75%乙醇棉球消毒,穴位定位参考文献^[16],选取大鼠双侧“足三里”,一次性无菌针灸针直刺5 mm,针柄处连接电针仪,连续波,频率10 Hz,强度0.5 mA,以不引起大鼠嘶吼或剧烈挣扎,针刺局部肌肉微颤为宜,1次/d,每次15 min,连续14d。

西药组:参照《药理实验方法学》中成人与大鼠体表面积的计算原则,折算等效给药剂量^[17]。在造模结束2d后,西药组大鼠给予伊托必利溶液(15.6 mg/kg)灌胃,1次/d,连续干预14d。

电针+激动剂组:在造模结束后,异氟烷吸入性麻醉大鼠并使其俯卧位固定,于背侧脊髓胸(T)₁₀~腰(L)₁节段处剃毛消毒,采用微量进样器鞘内注射NMDA,以大鼠出现甩尾表示注射成功。每次鞘内注射0.147 μg/10 μL,1次/d,连续3d,最后1次注射30 min后进行电针干预^[18-19],具体操作同电针组。

正常组和模型组:大鼠仅给予与电针组相同方式抓取固定,不予其他干预处理。

1.5 观察指标及检测方法

一般情况观察:每日定时观察记录各组大鼠皮毛色泽、精神状态、进食量、活动量、粪便性状等;分别于造模前后和治疗干预结束后,对大鼠进行称量并记录大鼠的体质量变化情况。

胃内球囊容积/压力变化与腹部撤退反射(AWR)评分评价大鼠内脏高敏感程度:干预结束后,大鼠禁食不禁水24 h,给予异氟烷吸入性麻醉后,将球囊经食管置于胃中,充气约10 mL,确定其位于胃内且可顺利充气扩张,气囊通过导气管连接电子恒压器。将大鼠固定于鼠架,待大鼠苏醒并适应后,推进注射器对大鼠胃内球囊分阶段加压,分别为10、30、50、70 mmHg(1 mmHg $\approx$ 0.133 kPa),每次加压持续30 s,后释放压力至0 mmHg,3 min后进行下一梯度加压^[14]。采用八通道电生理记录仪监测压力值,记录目标压力值时的球囊容积,结果以胃内球囊容积/压力(mL/mmHg)表示,用于评价大鼠胃顺应性;监测并记录AWR评分,用于评价大鼠胃敏感性。评分标准:对扩张刺激无行为反应为0分,短暂的头部运动后停止为1分,腹部肌肉收缩为2分,腹部收缩并提起为3分,弓背并抬起骨盆为4分。

取材方法:内脏高敏感评价结束后第2天,所有大鼠禁食不禁水24 h,麻醉处死大鼠,取出胃、十二指肠和T₁₀~L₁脊髓组织。胃和十二指肠组织用0.9%氯化钠溶液清洗,并置于4%多聚甲醛溶液中固定,用于HE染色观察;其余脊髓组织冻存于-80℃冰箱,用于后续检测。

HE染色观察大鼠胃和十二指肠组织病理形态变化:将胃和十二指肠组织置于4%多聚甲醛中固定24 h,脱水后常规蜡块包埋,切片(4 μ m)。HE染色后脱水、透明、中性树胶封片。在光学显微镜下观察大鼠胃和十二指肠组织形态及炎性损伤情况。

LC-MS/MS技术进行大鼠脊髓组织氨基酸代谢谱检测:取正常组、模型组、电针组和西药组大鼠50 mg脊髓组织于离心管中,加入预冷的70%甲醇水溶液中。涡旋混匀后4℃高速离心10 min,取上清液-20℃静置30 min,再次4℃高速离心10 min,取上清液过蛋白沉淀板后用于检测。LC-MS/MS分析使用ExionLC™ AD超高效液相色谱联合QTRAP® 6500+串联质谱。色谱条件:ACQUITY BEH Amide色谱柱(1.7 μ m, 100 mm $\times$ 2.1 mm),柱温40℃,流速0.4 mL/min,进样量为2 μ L。流动相:A相,超纯水(含2 mmol/L乙酸铵,0.04%甲酸);B相,乙腈(含2 mmol/L乙酸铵,0.04%甲酸)。梯度洗脱:0~1.2 min A/B为10:90(V/V),9 min A/B为40:60(V/V),10~11 min为60:40(V/V),11.01~15 min为10:90(V/V)。质谱条件:电喷雾离子源(ESI)温度550℃,正离子模式下质谱电压

5 500 V,负离子模式下质谱电压-4 500 V,气帘气35 psi。在Q-Trap 6500+中,每个离子对根据去簇电压和碰撞能进行扫描检测。通过主成分分析(PCA)对各组大鼠进行代谢模式识别,结合正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)对差异性代谢物进行筛选。结合KEGG富集分析涉及的通路结果对其中可能参与FD相关中枢敏化及内脏感觉异常的谷氨酸含量进行检测。

Western blot法检测大鼠脊髓组织Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1蛋白表达量:取-80℃冰箱冻存的各组大鼠脊髓组织各100 mg,加入到含1% PMSF的RIPA裂解液中匀浆、裂解,4℃离心15 min后取上清液,使用BCA法测定蛋白浓度并计算上样量,按4:1比例与上样缓冲液混合,金属浴变性10 min。蛋白经SDS-PAGE电泳后转移至PVDF膜,5%脱脂奶粉37℃封闭1 h,加入Synaptophysin(1:60 000)、PSD95(1:25 000)、VGLUT1(1:2 000)、VGLUT2(1:1 500)、NMDAR1(1:2 000)、GAPDH(1:20 000)一抗4℃孵育过夜,次日TBST洗涤3次,每次10 min,加入HRP标记二抗(1:5 000)摇床孵育1 h, TBST洗涤3次, ECL发光法进行显影。采用Image J软件对蛋白条带灰度值进行相对定量分析,以目的蛋白条带灰度值与内参蛋白(GAPDH)条带灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

RT-qPCR法检测大鼠脊髓组织Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的mRNA表达:取大鼠冻存脊髓组织100 mg,液氮中剪碎研磨,Trizol法提取组织RNA,检测RNA纯度和浓度,并将RNA反转录为cDNA,反转录反应条件:37℃15 min,85℃5 s。以cDNA为模板进行扩增,反应体系为20 μ L,扩增反应条件:预变性95℃30 s;PCR反应95℃5 s,60℃30 s,共40个循环。反应结束后,获得扩增曲线和熔解曲线。以GAPDH为内参基因,检测样本的Ct值,按 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因相对表达量,引物由武汉赛维尔设计并合成,引物序列见表1。

1.6 统计学方法

采用SPSS27.0软件进行数据统计分析,使用GraphPad Prism 10.0软件绘制图表。计量资料数据符合正态分布且方差齐性检验者,用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,体质量、胃顺应性及胃敏感性的组间比较采用双因素重复测量方差分析,其他数据组间比

表1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物 长度/ bp
Synaptophysin	上游 AGTGGGTCTTTGCCATCTTCG 下游 TCAAAGTACACTTGGTGCAGCCT	151
PSD95	上游 TAAGCGGGAATATGAGATAGACGG 下游 GGTCCCATAGAGGTGGCTGTT	127
VGLUT1	上游 GGGGTACATTGTCACTCAGATTCCCT 下游 ATAGTGAACACGGGCTGCTGAA	133
VGLUT2	上游 GGGTGGCAAAGTTATCAAGGAG 下游 TGAGGGTAGAGGTAAGCAGTATGG	179
NMDAR1	上游 AATGCTCCTGCAACCCTCACTT 下游 GGCTCTGCTCTACCACTCTTTCTAT	209
GAPDH	上游 CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG 下游 GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT	138

注: Synaptophysin 为突触素, PSD95 为突触后密度蛋白 95, VGLUT1 为囊泡谷氨酸转运蛋白 1, VGLUT2 为囊泡谷氨酸转运蛋白 2, NMDAR1 为 N-甲基-D-天冬氨酸受体 1。

较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义的标准。

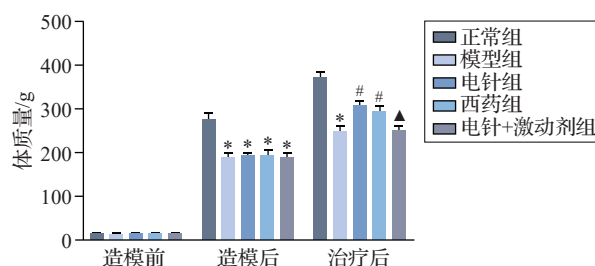
2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较

正常组大鼠精神状态良好, 毛发顺泽, 活动灵敏, 饮食正常, 大便成形, 呈黄褐色。模型组大鼠倦怠嗜卧, 毛发枯乱不荣, 喜蜷缩聚堆, 食欲下降, 体型消瘦, 大便质地稀溏呈黄绿色。与模型组比较, 电针组、西药组大鼠精神状态改善, 毛发密集整洁稍有光泽, 活动度、反应灵敏度明显改善, 抓捕时反抗, 进食量逐渐增加, 粪便稍干。电针+激动剂组大鼠精神欠佳、活动减少, 毛发较模型组略显平整, 但仍显枯槁。蜷缩聚堆现象略有减轻但未明显改善, 且食欲低下, 大便以稀溏为主。造模前, 各组大鼠体质量差异无统计学意义。造模后, 与正常组比较, 其余各组模型大鼠体质量均降低 ($P < 0.05$)。治疗干预后, 与模型组比较, 电针组、西药组大鼠体质量升高 ($P < 0.05$), 模型组和电针+激动剂组大鼠体质量差异无统计学意义; 与电针+激动剂组比较, 电针组大鼠体质量升高 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 各组大鼠胃顺应性比较

各组大鼠胃内球囊压力在 10 mmHg 时, 胃内球囊容积/压力差异无统计学意义; 当大鼠胃内球囊

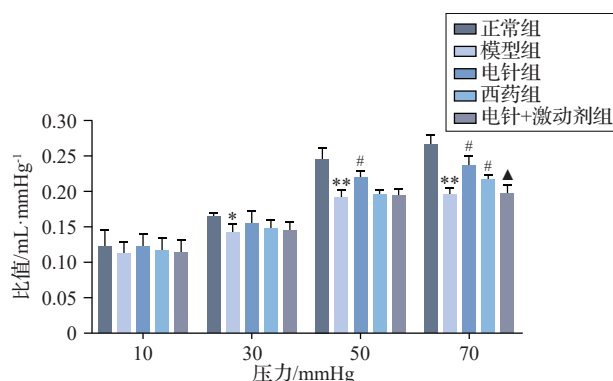


注: 与同时点正常组比较, $*P < 0.05$; 与同时点模型组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与同时点电针组比较, $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图1 各组大鼠体质量比较 ($\bar{x} \pm s$, 15 只鼠/组)

Fig. 1 Comparison of body mass of rats in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 15 rats/group)

压力在 30、50、70 mmHg 时, 模型组大鼠胃内球囊容积/压力明显低于正常组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 当大鼠胃内球囊压力在 50、70 mmHg 时, 电针组胃内球囊容积/压力高于模型组 ($P < 0.05$); 当球囊压力为 70 mmHg 时, 西药组大鼠胃内球囊容积/压力高于模型组 ($P < 0.05$), 电针组大鼠胃内球囊容积/压力高于电针+激动剂组 ($P < 0.05$)。模型组和电针+激动剂组大鼠各阶段压力下胃内球囊容积/压力差异无统计学意义。见图 2。



注: 与相同压力正常组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$; 与相同压力模型组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与相同压力电针组比较, $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图2 各组大鼠胃顺应性比较 ($\bar{x} \pm s$, 15 只鼠/组)

Fig. 2 Comparison of gastric compliance of rats in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 15 rats/group)

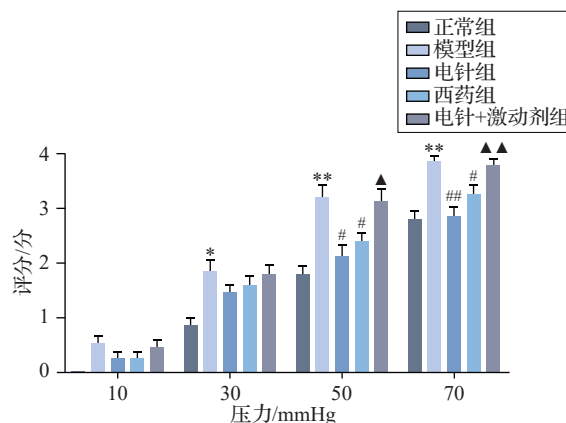
2.3 各组大鼠胃敏感性比较

各组大鼠胃内球囊压力在 10 mmHg 时, AWR 评分差异无统计学意义; 当大鼠胃内球囊压力为 30、50、70 mmHg 时, 模型组 AWR 评分显著高于正常组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 当球囊压力为 50、70 mmHg 时, 电针组和西药组 AWR 评分低于模型组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 电针组 AWR 评分低于电针+激动剂组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。模型组和电

针+激动剂组大鼠各阶段压力下 AWR 评分差异无统计学意义。见图 3。

2.4 各组大鼠胃和十二指肠组织病理形态比较

正常组大鼠胃组织黏膜上皮完整,固有膜内腺体排列密集,未见明显充血水肿;十二指肠组织绒毛正常,长度整齐,杯状细胞完整,未见明显炎性浸润。与正常组比较,模型组大鼠胃组织毛细血管充血,炎性细胞散在分布,部分上皮细胞脱落,固有膜内水肿,胃窦组织均少量见明显溃疡、出血或糜烂等器质性改变;十二指肠组织杯状细胞消失,绒毛断裂,有空泡样变。与模型组比较,电针组和西药组大鼠胃和十二指肠黏膜形态相对完好,结构恢复较好,炎性渗出相对减少。电针+激动剂组大鼠胃及十二指肠组织病理形态较模型组略有缓解,但整体改善程度有限,仍可见上皮轻度脱落、炎性细胞浸润及充血等改变,十二指肠绒毛结构稍有恢复但仍存在断裂及排列不整,杯状细胞未完全恢复。见

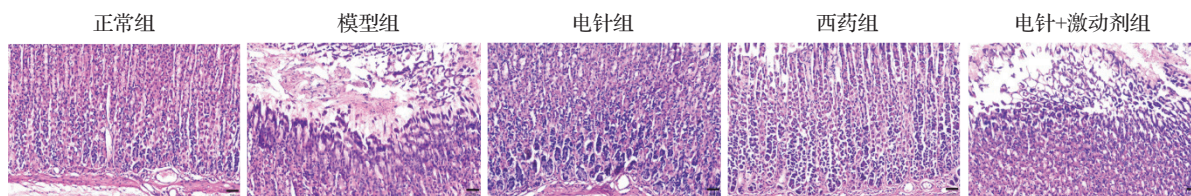


注:与相同压力正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与相同压力模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与相同压力电针组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$ 。

图 3 各组大鼠胃敏感性比较($\bar{x}\pm s$,15 只鼠/组)

Fig. 3 Comparison of gastric sensitivity of rats in the 5 groups ($\bar{x}\pm s$,15 rats/group)

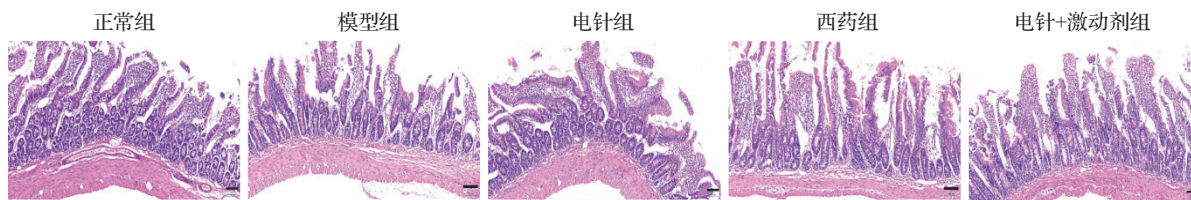
图 4、图 5。



注:标尺=50 μm 。

图 4 各组大鼠胃黏膜病理变化比较(HE 染色)

Fig. 4 Comparison of pathological changes in the gastric mucosa of rats in the 5 groups(HE staining)



注:标尺=100 μm 。

图 5 各组大鼠十二指肠黏膜病理变化比较(HE 染色)

Fig. 5 Comparison of pathological changes in the duodenal mucosa of rats in the 5 groups(HE staining)

2.5 大鼠脊髓组织氨基酸代谢谱检测

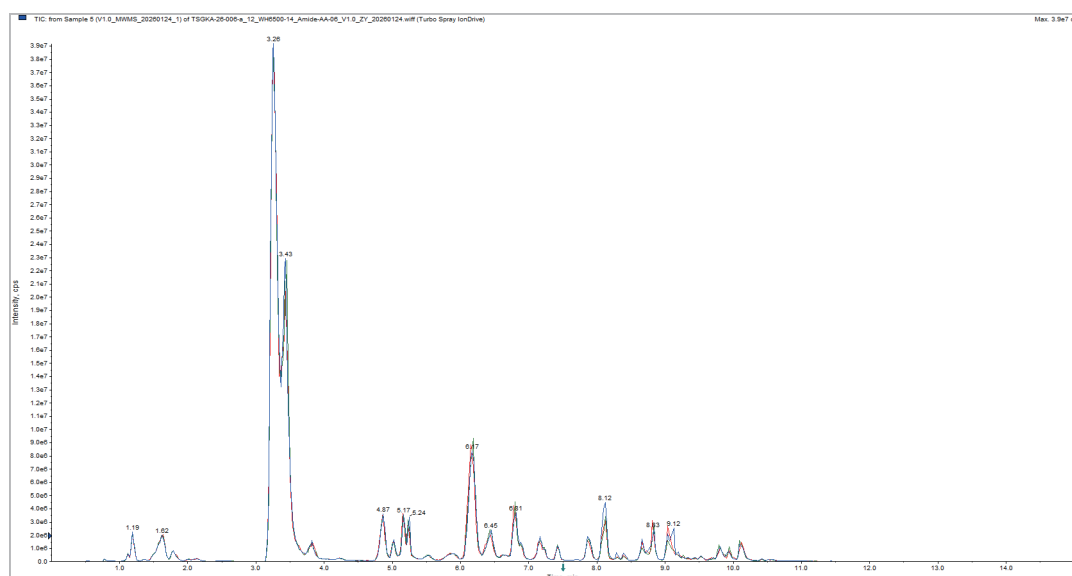
2.5.1 样本数据质控

质控(QC)样本总离子流(TIC)重叠图谱显示,各色谱峰峰型良好,响应强度和保留时间基本重合,总离子强度无明显波动,说明实验仪器误差引起变异较小,检测数据具有良好的重复性和可靠性。见图 6。

2.5.2 多元统计分析

主成分分析(PCA)结果显示,第一主成分

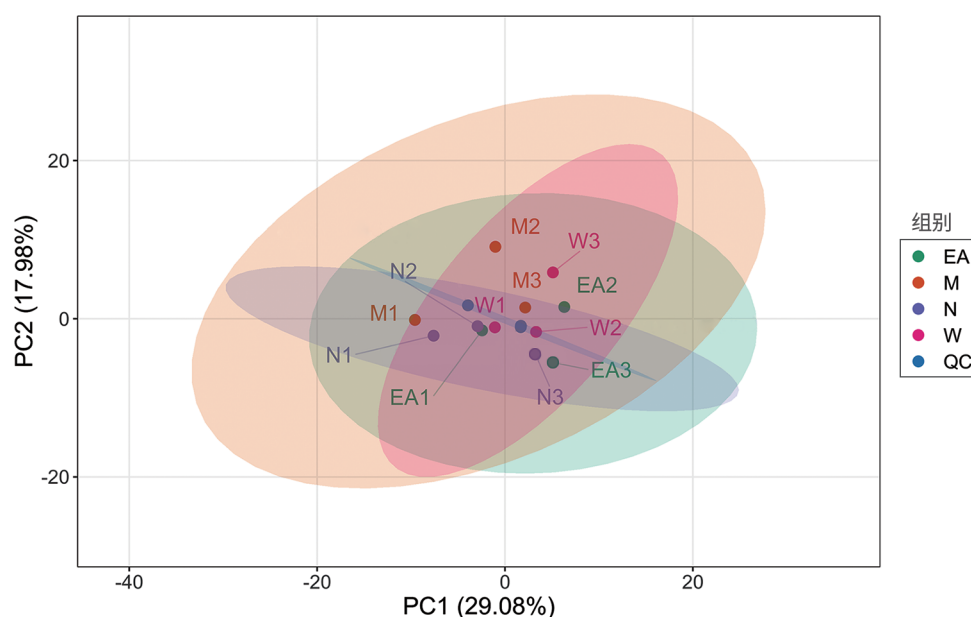
(PC1)和第二主成分(PC2)分别解释了 29.08% 和 17.98% 的变异,总解释率为 47.06%。各组样本在整体代谢谱水平上呈现一定的分离趋势,其中正常组与模型组表现出一定程度的区分,提示造模可能导致大鼠体内代谢状态发生改变;电针组和西药组相较模型组在空间分布上呈现一定的回归趋势,但组间仍存在部分重叠,提示干预后代谢紊乱有所改善但未完全恢复。与此同时,QC 样本聚集紧密,表明检测系统稳定性良好。见图 7。



注：TIC为总离子流，QC为质量控制。

图6 各组大鼠脊髓组织QC样本质谱检测TIC重叠图

Fig. 6 QC sample mass spectrometry detection TIC overlay plot



注：PCA为主成分分析，PC1为第一主成分，PC2为第二主成分；N为正常组，M为模型组，EA为电针组，W为西药组，QC为质控样本。

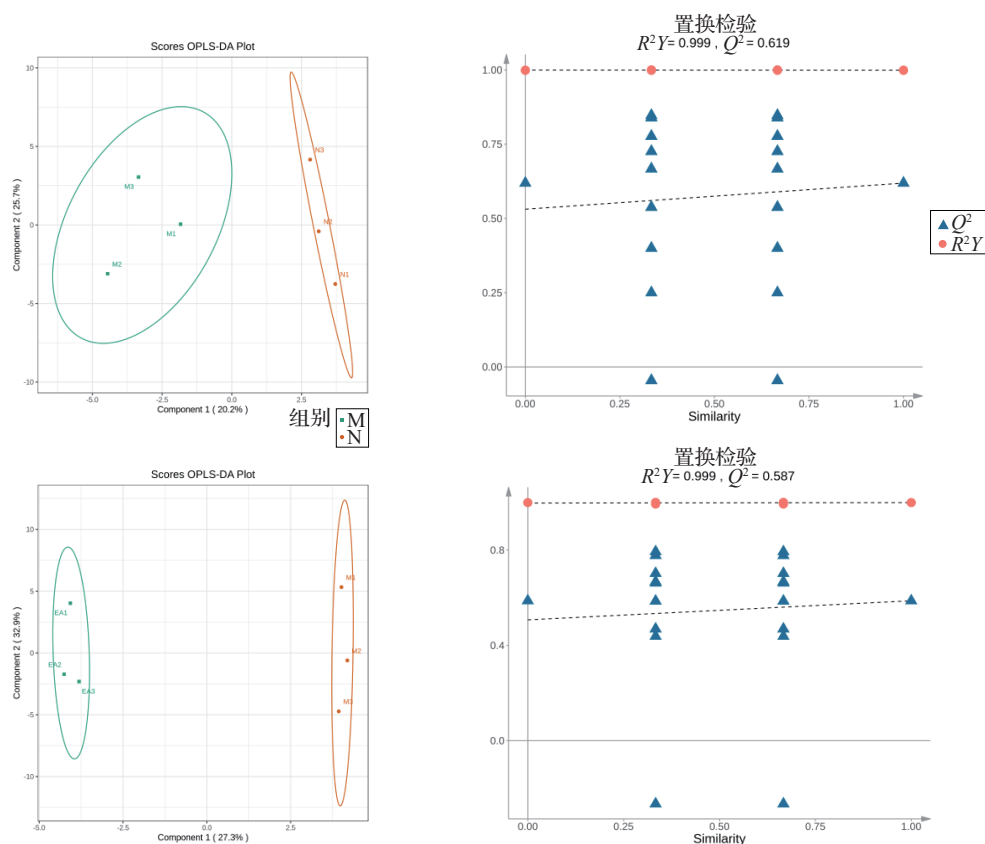
图7 各组大鼠脊髓组织氨基酸代谢谱PCA分析图

Fig. 7 PCA analysis plot of amino acid metabolic profile of spinal cord tissue of rats in the 4 groups

采用OPLS-DA判断组间差异，结果显示各组样本存在明显的组间分离与组内聚集，提示各组代谢物存在显著差异。根据置换检验参数进行验证评价，正常组和模型组比较， $R^2Y=0.999$ ， $R^2X=0.705$ ， $Q^2=0.619$ ；模型组和电针组比较， $R^2Y=0.999$ ， $R^2X=0.842$ ， $Q^2=0.587$ 。其中 $R^2Y>Q^2$ ，且 $Q^2>0.5$ ，表明模型稳定可靠，不存在过拟合现象。见图8。

2.5.3 聚类分析

对差异代谢物进行层次聚类分析并绘制热图，图中颜色变化反映代谢物相对含量的高低，列代表样本组别，行代表代谢物。结果显示，各组样本在相对代谢水平上呈现出不同表达模式，模型组与正常组在多种氨基酸上存在差异，提示FD大鼠的氨基酸代谢发生整体改变。与模型组相比，电针组和西药组部分差异代谢物不同程度向正常组方向回



注: OPLS-DA 为正交偏最小二乘判别分析; N 为正常组, M 为模型组, EA 为电针组, W 为西药组。

图 8 各组大鼠 OPLS-DA 分析得分图及置换验证参数图

Fig. 8 OPLS-DA analysis score plots and permutation testing parameter plots

调,提示治疗干预对异常氨基酸代谢具有一定程度调节作用。见图 9。

2.5.4 差异代谢物分析

分别筛选正常组和模型组、模型组和电针组的差异代谢物,并采用火山图将筛选结果进行可视化分析。结果显示,模型组和正常组相比有 9 个差异代谢物,其中 7 个代谢物上调,2 个代谢物下调,以上调代谢物为主。电针组和模型组相比有 4 个代谢物发生改变,其中 2 个代谢物上调,2 个代谢物下调,差异代谢物数量减少,大部分代谢物分布于无显著差异区域,提示电针干预可能在一定程度上缓解大鼠的代谢紊乱状态。见图 10。

2.5.5 代谢通路分析

对差异代谢物进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,结果显示,正常组与模型组共有的差异代谢物富集通路包括色氨酸代谢(Tryptophan metabolism),牛磺酸和亚牛磺酸代谢(Taurine and hypotaurine metabolism),代谢途径(Metabolic pathways),赖氨酸降解(Lysine degradation),甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(Glycine, serine and threonine metabolism),D-氨基

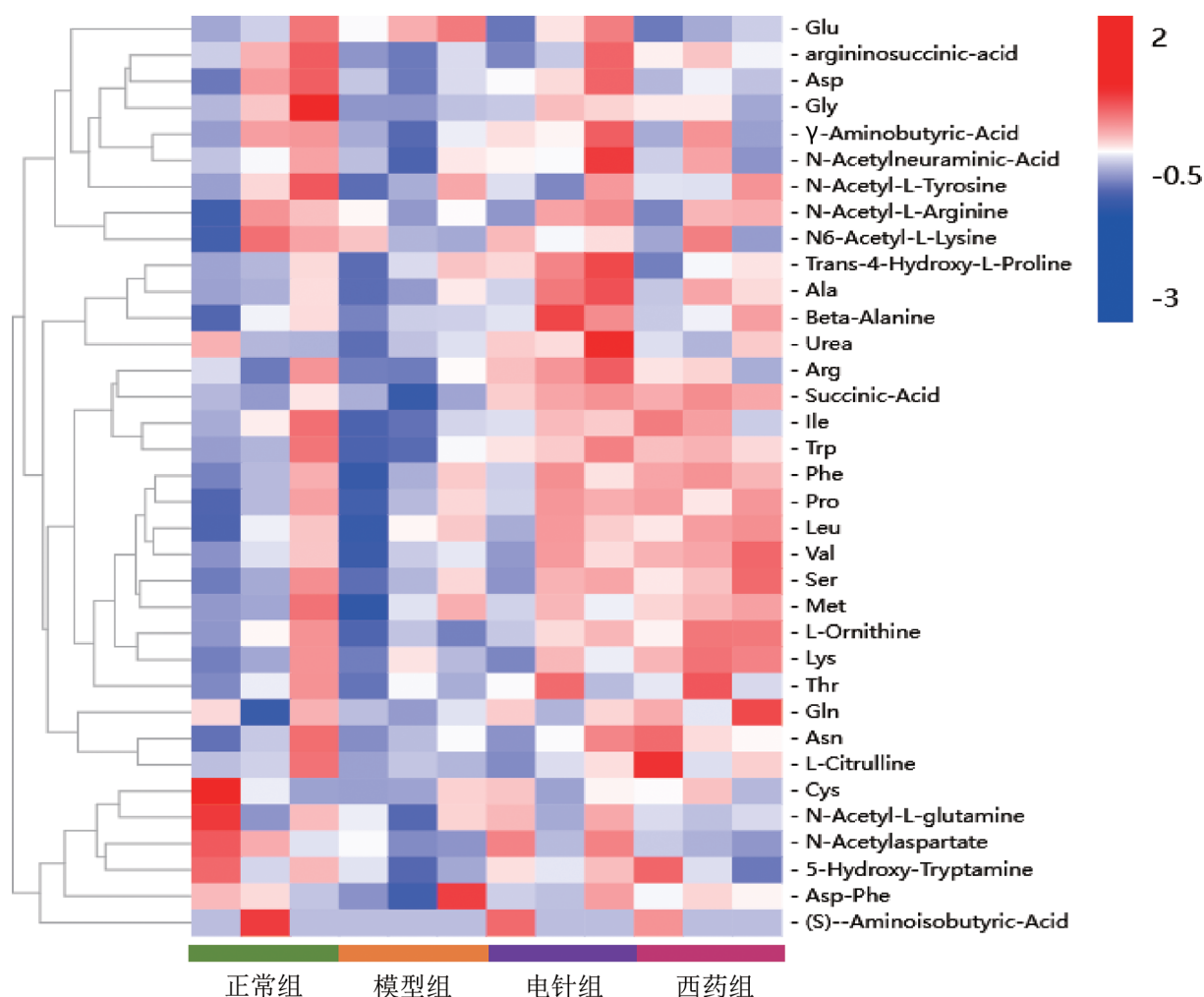
酸代谢(D-Amino acid metabolism),辅因子生物合成(Biosynthesis of cofactors),精氨酸和脯氨酸代谢(Arginine and proline metabolism),丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(Alanine, aspartate and glutamate metabolism)等。模型组与电针组共有的差异代谢物富集通路包括牛磺酸和亚牛磺酸代谢(Taurine and hypotaurine metabolism),代谢途径(Metabolic pathways),半胱氨酸和蛋氨酸代谢(Cysteine and methionine metabolism),氨基酸的生物合成(Biosynthesis of amino acids),丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(Alanine, aspartate and glutamate metabolism)等。见图 11。

2.5.6 大鼠脊髓组织谷氨酸含量比较

与正常组比较,模型组大鼠脊髓谷氨酸含量增多($P<0.01$);与模型组比较,电针组和西药组大鼠脊髓谷氨酸含量减少($P<0.05$, $P<0.01$)。见图 12。

2.6 各组大鼠脊髓组织 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1 蛋白表达比较

与正常组比较,模型组大鼠脊髓组织中 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、



注:Glu为谷氨酸,argininosuccinic-acid为精氨酸琥珀酸,Asp为天冬氨酸,Gly为甘氨酸, γ -Aminobutyric-Acid为 γ -氨基丁酸,N-Acetylneuraminic-Acid为N-乙酰神经氨酸,N-Acetyl-L-Tyrosine为N-乙酰-L-酪氨酸,N-Acetyl-L-Arginine为N-乙酰-L-精氨酸,N6-Acetyl-L-Lysine为N6-乙酰-L-赖氨酸,Trans-4-Hydroxy-L-Proline为反式-4-羟基-L-脯氨酸,Ala为丙氨酸,Beta-Alanine为 β -丙氨酸,Urea为尿素,Arg为精氨酸,Succinic-Acid为琥珀酸,Ile为异亮氨酸,Trp为色氨酸,Phe为苯丙氨酸,Pro为脯氨酸,Leu为亮氨酸,Val为缬氨酸,Ser为丝氨酸,Met为甲硫氨酸,L-Ornithine为L-鸟氨酸,Lys为赖氨酸,Thr为苏氨酸,Gln为谷氨酰胺,Asn为天冬酰胺,L-Citrulline为L-瓜氨酸,Cys为半胱氨酸,N-Acetyl-L-glutamine为N-乙酰-L-谷氨酰胺,N-Acetylaspartate为N-乙酰天冬氨酸,5-Hydroxy-Tryptamine为5-羟色胺,Asp-Phe为天冬氨酰-苯丙氨酸二肽,(S)-Aminoisobutyric-Acid为(S)-氨基异丁酸。右侧标尺代表代谢物相对含量。

图9 各组大鼠差异代谢物聚类分析热图

Fig. 9 Heat map of differential metabolite clustering analysis

NMDAR1蛋白相对表达量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组和西药组 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1蛋白相对表达量降低($P<0.05$, $P<0.01$);与电针组比较,电针+激动剂组大鼠 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2蛋白相对表达量升高($P<0.05$, $P<0.01$)。模型组和电针+激动剂组大鼠脊髓组织 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1蛋白相对表达量差异无统计学意义。见图13。

2.7 各组大鼠脊髓组织 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的mRNA表达比较

与正常组相比,模型组大鼠脊髓 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的mRNA表达升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组和西药组 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的mRNA表达降低($P<0.05$);与电针组比较,电针+激动剂组大鼠 Synaptophysin、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的

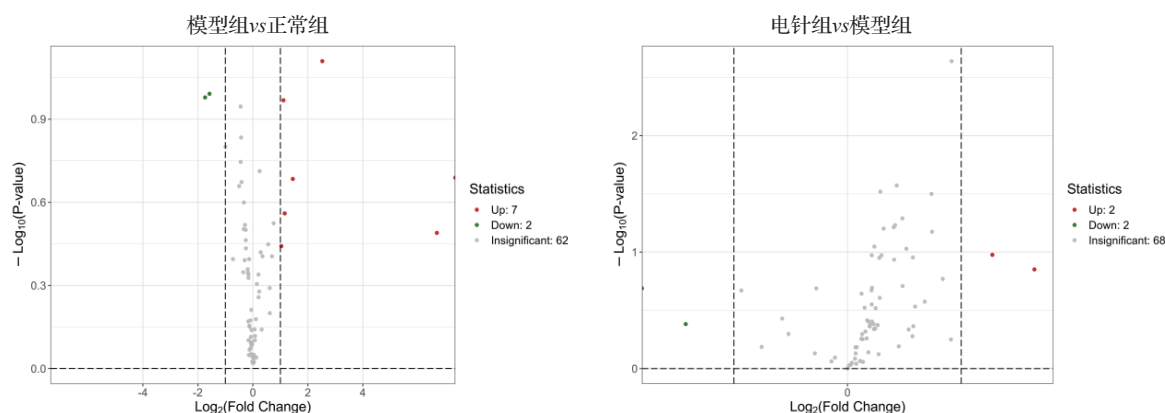
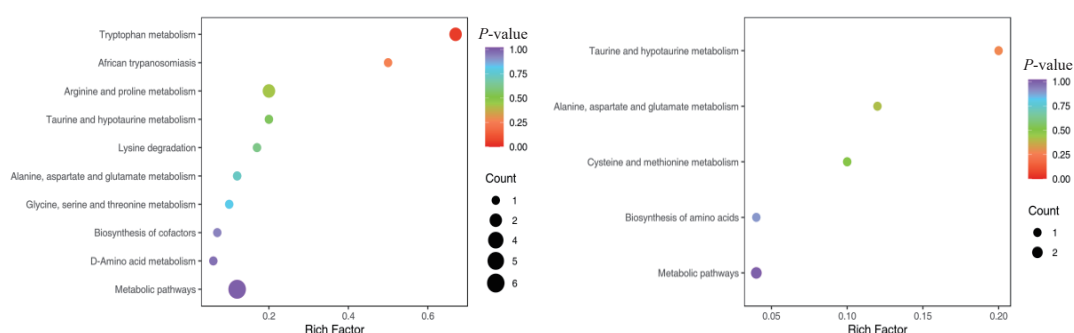


图 10 各组大鼠差异代谢物火山图

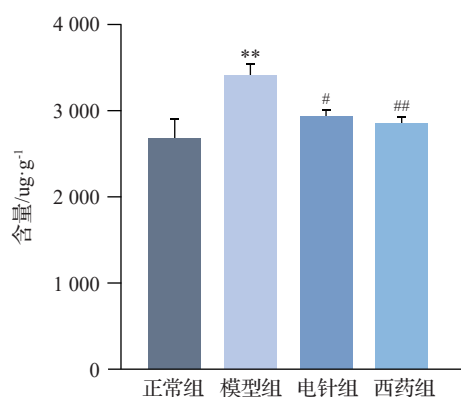
Fig. 10 Volcano plots of differential metabolites of rats in the 3 groups



注:KEGG为京都基因与基因组百科全书。左图为正常组与模型组共有的差异代谢物富集通路,右图为模型组与电针组共有的差异代谢物富集通路。

图 11 各组大鼠差异代谢物 KEGG 功能通路富集分析图

Fig. 11 Enrichment analysis diagram of KEGG functional pathways for differential metabolites



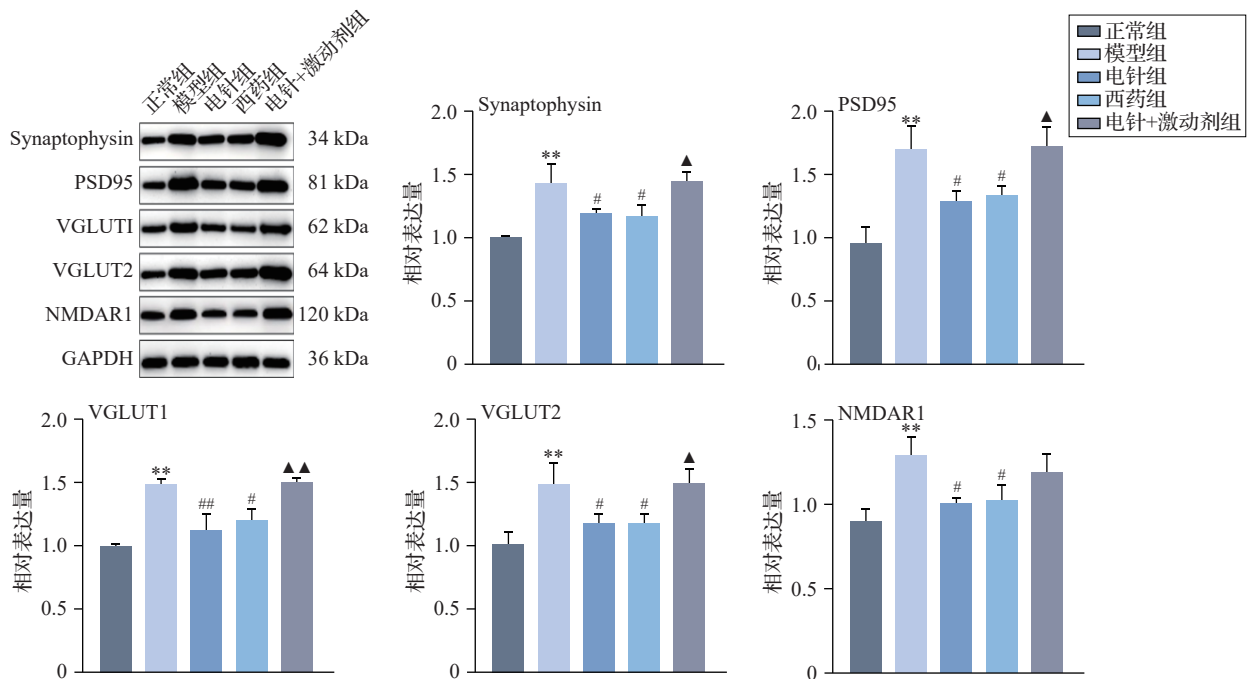
注:Glu为谷氨酸。与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较, $\#P<0.05$, $\##P<0.01$ 。

图 12 各组大鼠脊髓谷氨酸含量比较($\bar{x}\pm s$,3只鼠/组)Fig. 12 Comparison of glutamate content in spinal cord tissue of rats in the 4 groups($\bar{x}\pm s$,3 rats/group)

mRNA 表达量升高($P<0.05$)。模型组和电针+激动剂组大鼠脊髓组织 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1 的 mRNA 表达差异无统计学意义。见图 14。

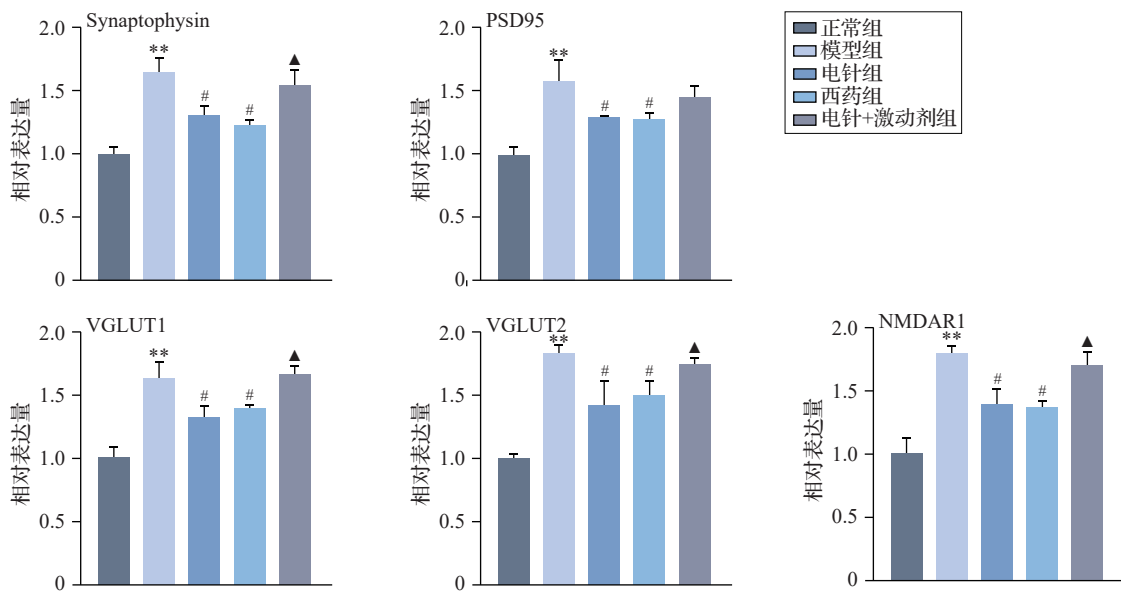
3 讨论

FD 在中医学中可归于“胃痞”范畴,其病位主要在胃,并与肝、脾等多个脏器密切相关,多因脾虚肝郁胃滞而发病^[20],临床发作为胃脘部痞塞不通、胸膈满闷不舒。《伤寒论·辨太阳病脉证并治》曰:“但满而不痛者,此为痞。”提示 FD 与脾胃运化失调阻滞有关。足三里是中医重要的“保健要穴”,其属足阳明胃经合穴,具有健脾和胃、理气通滞的功效。《灵枢·邪气脏腑病形》曰:“荣输治外经,合治内腑。”也印证了足三里是治疗胃腑疾病的核心穴位。衣华强等^[21]研究显示,足三里与胃在形态学上存在联系,两者支配神经节段高度重合,揭示了足三里治疗胃病的作用机制。本研究结果显示,与正常组相比,模型组大鼠毛发枯乱不荣,食欲下降,体型消瘦,倦怠嗜卧,喜蜷缩聚堆,大便质地稀溏,呈黄绿色;经电针干预后,上述指标均得到改善,说明电针“足三里”能够改善 FD 大鼠一般情况,减缓其病理进程。模型组大鼠胃组织出现溃疡、出血与糜烂等器质性改变,十二指肠组织绒毛断裂,有空泡



注: Synaptophysin 为突触素, PSD95 为突触后密度蛋白 95, VGLUT1 为囊泡谷氨酸转运蛋白 1, VGLUT2 为囊泡谷氨酸转运蛋白 2, NMDAR1 为 N-甲基-D-天冬氨酸受体 1。与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与电针组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$ 。

图 13 各组大鼠脊髓组织中 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$, 5 只鼠/组)
Fig. 13 Comparison of Synaptophysin, PSD95, VGLUT1, VGLUT2 and NMDAR1 protein expression in spinal cord tissues of rats in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 5 rats/group)



注: Synaptophysin 为突触素, PSD95 为突触后密度蛋白 95, VGLUT1 为囊泡谷氨酸转运蛋白 1, VGLUT2 为囊泡谷氨酸转运蛋白 2, NMDAR1 为 N-甲基-D-天冬氨酸受体 1。与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与电针组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

图 14 各组大鼠脊髓组织中 Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$, 5 只鼠/组)
Fig. 14 Comparison of Synaptophysin, PSD95, VGLUT1, VGLUT2 and NMDAR1 mRNA expression in spinal cord tissues of rats in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 5 rats/group)

样变。而电针组大鼠经治疗后上述情况改善,进一步说明电针“足三里”对 FD 大鼠胃肠黏膜结构具有保护恢复作用。

胃肠敏感性和顺应性改变是 FD 的重要病理因素,也是内脏高敏感的主要临床表现。当胃肠道消化系统受到有害刺激后,损伤区域痛觉感受器被激

活,进而刺激免疫细胞释放组胺、白细胞介素-1 β 等炎性介质,诱发局部血管扩张、通透性增加,导致血浆蛋白外渗及水肿形成,出现外周敏化^[22]。脊髓背角是内脏感觉产生的关键部位,当外周敏化发生后,脊髓灰质的第I、III-IV和X层神经元被激活,接受C类和A δ 神经纤维传入的内脏痛觉信息,进而发生脊髓中枢敏化^[23]。外周内脏传入神经元敏化与脊髓背角神经元敏化共同导致机体对伤害性疼痛信息的处理增强,最终诱发FD内脏高敏感发生。本研究结果显示,模型组大鼠胃内球囊容积/压力低于正常组,AWR评分升高,提示FD大鼠胃壁僵硬,脏器对扩张刺激耐受性不佳,存在内脏高敏感病理状态。电针干预后,大鼠胃顺应性增高,胃敏感性降低,AWR评分降低,说明电针“足三里”能够有效增强大鼠胃肠功能,提高胃部扩张能力和内脏刺激阈值,改善FD引起的内脏高敏感症状。

本研究基于LC-MS/MS代谢组学分析筛选差异代谢物,结果显示各组大鼠代谢物表达模式上存在差异,而且谷氨酸含量在不同组间存在明显变化,提示其为FD病理进程中关键的差异代谢物。谷氨酸是突触间重要的兴奋性神经递质,其合成、储存、释放及再摄取过程直接影响机体神经信号传递活动^[24]。Zhang等^[25]通过纳米传感器证实,突触前谷氨酸释放增强与LTP进程密切相关。本研究结果显示,模型组大鼠脊髓谷氨酸含量较正常组显著升高;与模型组相比,电针组与西药组脊髓谷氨酸含量明显降低,提示FD大鼠脊髓谷氨酸代谢在突触LTP及内脏高敏感形成中发挥重要作用,而电针干预可在一定程度上调控谷氨酸相关代谢紊乱,减轻FD大鼠的病理异常状态。VGLUT1、VGLUT2是主要分布于囊泡膜上的谷氨酸转运体,突触前膜胞质内的谷氨酸主要依赖VGLUT1特异性转入储存于囊泡中,然后由VGLUT2以胞吐形式释放到突触间隙与谷氨酸受体结合发挥生理作用^[26-27]。研究证实,离子型谷氨酸受体NMDAR是目前已知最重要的突触LTP受体^[28]。病理情况下,突触前膜囊泡内谷氨酸通过VGLUT1和VGLUT2摄取转运,释放至突触间隙大量积聚,促使突触后膜去极化,解除Mg²⁺对NMDAR通道的阻滞作用,大量Ca²⁺进入神经元^[29],激活NMDAR-细胞外信号调节激酶(ERK)/环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(CREB)信号通路,提高谷氨酸能突触传递效率,诱导突触LTP发生^[30-31]。LTP的产生导致内脏痛觉传导增强,从而成为驱动内脏高敏感发生的核心病理基

础。本研究结果显示,模型组大鼠脊髓组织VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的蛋白及mRNA表达水平升高,提示FD模型大鼠脊髓谷氨酸转运及受体结合异常可诱发突触LTP进而导致内脏高敏感发生。经电针治疗后,上述功能蛋白表达水平均显著下调,说明电针“足三里”可调控FD大鼠脊髓组织VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1表达水平,影响谷氨酸转运结合进程,抑制突触LTP并缓解内脏高敏感。

Synaptophysin是位于神经元突触囊泡膜上的核心效应蛋白,可与Ca²⁺特异性结合,促进突触囊泡在突触前终末内的定向转运,进一步诱导突触前膜持续释放谷氨酸,维持神经信号传递的稳定性^[32]。PSD95是定位于兴奋性神经元突触后膜的支架蛋白,通过PDZ结构域招募谷氨酸受体及电压门控离子通道,进而维持突触后结构稳定,使谷氨酸结合受体后信号向下游传导^[33]。Synaptophysin与PSD95作为神经突触前后膜的特异性标志物,协同调控突触间信号传导。本研究结果显示,模型组大鼠脊髓组织Synaptophysin、PSD95的蛋白及mRNA表达水平升高。与模型组比较,电针组大鼠脊髓组织Synaptophysin、PSD95的蛋白及mRNA表达水平均显著下调,说明电针“足三里”可调控FD大鼠脊髓组织Synaptophysin、PSD95表达水平,维持突触传递效能,从而抑制突触LTP发生。

值得注意的是,本研究中电针+激动剂组相较于模型组大鼠在多个指标检测中均未表现出显著改善。而与电针组相比,电针+激动剂组大鼠一般情况不佳,体质量降低,胃肠组织病理情况稍有改善,但仍存在部分炎性损伤表现;在胃顺应性和敏感性评价中,胃内球囊容积/压力降低,AWR评分升高;脊髓组织中Synaptophysin、PSD95、VGLUT1、VGLUT2蛋白相对表达量升高,Synaptophysin、VGLUT1、VGLUT2、NMDAR1的mRNA表达量升高。提示激动剂NMDA可能影响了电针干预的关键通路及作用效应,同时从反向验证了由谷氨酸及其受体NMDAR介导的相关信号通路是电针调控FD的重要作用靶点。

现有针灸治疗FD相关研究多以炎症反应及脑-肠轴调控等方向为主^[34-35],而本研究聚焦于脊髓突触可塑性层面,创新性结合代谢组学分析筛选差异代谢物,同时通过激动剂NMDA鞘内注射干预,明确激活NMDAR后电针治疗作用是否被影响,进而探究谷氨酸代谢转运及受体NMDAR结合对于

电针治疗调控脊髓突触LTP发生、改善内脏高敏感型FD的作用途径及关键靶点,为电针临床治疗FD提供了科学依据与实践参考。然而,本研究仍存在一定局限性,代谢组学检测的氨基酸种类范围相对有限,可能未能覆盖全部相关代谢物,组内样本量较少,导致筛选得到的差异代谢物数量相对较少,未来有待深入研究。

综上所述,电针“足三里”可能是通过调控FD大鼠脊髓谷氨酸代谢,抑制谷氨酸转运体VGLUT1、VGLUT2及突触前后标志物Synaptophysin、PSD95表达,降低NMDAR1介导的突触LTP发生,延缓内脏痛觉信号传导,从而改善大鼠内脏高敏感症状。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Ford A C, Mahadeva S, Carbone M F, et al. Functional dyspepsia[J]. *Lancet*, 2020, 396(10263): 1689-1702.
- [2] Tack J, Palsson O S, Bangdiwala S I, et al. Functional dyspepsia and its subgroups: prevalence and impact in the Rome IV global epidemiology study[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2025, 62(3): 330-339.
- [3] Tack J, Drossman D A. What's new in Rome IV[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2017, 29(9): e13053.
- [4] 韩壮, 李襄, 张胜华, 等. 功能性消化不良发病机制的研究进展[J]. *老年医学研究*, 2022, 3(1): 42-46.
Han Z, Li X, Zhang S H, et al. Research progress in pathogenesis of functional dyspepsia (in Chinese) [J]. *Geriatrics Research*, 2022, 3(1): 42-46.
- [5] Garc ía-Mesa Y, Garc ía-Piqueras J, Cuendias P, et al. Synaptophysin is a selective marker for axons in human cutaneous end organ complexes[J]. *Ann Anat*, 2022, 243: 151955.
- [6] Ma L L, Sun D D, Wen S, et al. PSD-95 protein: a promising therapeutic target in chronic pain [J]. *Mol Neurobiol*, 2025, 62(3): 3361-3375.
- [7] Hagen H, Manahan-Vaughan D. Interplay of hippocampal long-term potentiation and long-term depression in enabling memory representations[J]. *Phil Trans R Soc B*, 2024, 379 (1906): 20230229.
- [8] Hayashi Y. Molecular mechanism of hippocampal long-term potentiation—Towards multiscale understanding of learning and memory[J]. *Neurosci Res*, 2022, 175: 3-15.
- [9] Miwa H, Nagahara A, Asakawa A, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for functional dyspepsia 2021[J]. *J Gastroenterol*, 2022, 57(2): 47-61.
- [10] 肖逸, 周竞颖, 尹鸿智, 等. 电针“内关”“足三里”对功能性消化不良大鼠胃窦组织胃肠激素的影响[J]. *中国针灸*, 2023, 43(12): 1435-1440.
Xiao Y, Zhou J Y, Yin H Z, et al. Effect of electroacupuncture at “Neiguan”(PC6) and “Zusanli”(ST36) on gastrointestinal hormone in the antral tissue of rats with functional dyspepsia (in Chinese)[J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2023, 43(12): 1435-1440.
- [11] 张成, 朱国旗, 王婧吉, 等. 针刺改善大鼠功能性消化不良伴抑郁样行为的作用机制研究[J]. *针刺研究*, 2025, 50(1): 76-83.
Zhang C, Zhu G Q, Wang J J, et al. Study on the mechanism of acupuncture underlying improvement of functional dyspepsia with depression-like behavior in rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(1): 76-83.
- [12] 《针刺研究》编辑部.《针刺研究》实验动物福利伦理审查清单[J]. *针刺研究*, 2024, 49(2): 220.
Editorial Board of Acupuncture Research. Review list of welfare ethics of experimental animals in *Acupuncture Research* (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49 (2): 220.
- [13] Zhao J Y, Zhao L Q, Zhang S S, et al. Modified Liu-Jun-Zi decoction alleviates visceral hypersensitivity in functional dyspepsia by regulating EC cell-5HT_{3r} signaling in duodenum [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 250: 112468.
- [14] 董佳梓, 荣培晶, 马铁明, 等. 电针“足三里”对功能性消化不良内脏高敏感大鼠肥大细胞/瞬时受体电位香草酸亚型1通路的影响[J]. *针刺研究*, 2022, 47(7): 592-597.
Dong J Z, Rong P J, Ma T M, et al. Influence of electroacupuncture of “Zusanli” (ST36) on mast cells/ TRPV1 signaling pathway in visceral hypersensitivity rats with functional dyspepsia (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2022, 47(7): 592-597.
- [15] 董佳梓, 荣培晶, 王晓彤, 等. 电针“足三里”对功能性消化不良大鼠十二指肠肥大细胞、NGF、NTRK1的影响[J]. *中国针灸*, 2022, 42(7): 767-772.
Dong J Z, Rong P J, Wang X T, et al. Effect of electroacupuncture at “Zusanli” (ST36) on duodenal mast cells, NGF and NTRK1 in rats with functional dyspepsia (in Chinese)[J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2022, 42 (7): 767-772.
- [16] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第2部分: 大鼠[J]. *针刺研究*, 2021, 46(4): 351-352.
China Association of Acupuncture and Moxibustion. Nomenclature and location of commonly used acupoints in experimental animals. Part 2: rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2021, 46(4): 351-352.
- [17] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
Xu S Y, Bian R L, Chen X. Pharmacological experimental methodology (in Chinese)[M]. 3rd edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.
- [18] 孔令恒, 孙娜, 朱娟霞, 等. 脊髓NMDA受体和NK1受体在大鼠心脏伤害性感受信息传递中的作用[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2013, 44(5): 722-726.
Kong L H, Sun N, Zhu J X, et al. The role of NMDA and NK1 receptors in cardiac nociceptive information transmissions

- in the spinal cords of rats (in Chinese) [J]. *Journal of Sichuan University (Medical Science Edition)*, 2013, 44(5): 722-726.
- [19] 杨震杰, 萨出拉, 于天源, 等. 基于NMDAR1/cGMP通路探究“三法三穴”对轻度慢性压迫性神经损伤大鼠脊髓背角的镇痛启动机制[J]. *北京中医药大学学报*, 2024, 47(7): 1017-1024.
- Yang Z J, Sa C L, Yu T Y, et al. Exploring the analgesic initiation mechanism of “three-manipulations and three-acupoints” on the spinal dorsal horn of rats with minor chronic constriction injury based on the NMDAR1/cGMP pathway (in Chinese) [J]. *Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 47(7): 1017-1024.
- [20] 王龙华, 王凤磊, 李静, 等. 功能性消化不良的中医辨治思路与对策[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(9): 5368-5371.
- Wang L H, Wang F L, Li J, et al. Thought of syndrome differentiation and countermeasures in Chinese medical treatment of functional dyspepsia (in Chinese) [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2021, 36(9): 5368-5371.
- [21] 衣华强, 马玉侠, 方剑乔. 足三里与胃特异性联系通路的荧光双标法研究[J]. *山东中医药大学学报*, 2012, 36(6): 532-533.
- Yi H Q, Ma Y X, Fang J Q. Study on the specific communication pathway between Zusanli and stomach by fluorescence double labeling method (in Chinese) [J]. *Journal of Shandong University of Traditional Chinese Medicine*, 2012, 36(6): 532-533.
- [22] Meerschaert K A, Chiu I M. The gut-brain axis and pain signalling mechanisms in the gastrointestinal tract [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2025, 22(3): 206-221.
- [23] Ji R R, Nackley A, Huh Y, et al. Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain [J]. *Anesthesiology*, 2018, 129(2): 343-366.
- [24] 姚娇, 杨岩涛, 艾启迪, 等. 神经递质功能与抑郁症发病的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(7): 1217-1221.
- Yao J, Yang Y T, Ai Q D, et al. Review of research progress on neurotransmitter function and depression (in Chinese) [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2023, 39(7): 1217-1221.
- [25] Zhang F L, Gao R X, Tian S Y, et al. Nanosensor detection of synaptic glutamate release and its enhancement in long-term potentiation [J]. *Small Meth*, 2025, 9(9): e00783.
- [26] Li F, Eriksen J, Osés-Prieto J A, et al. Substrate recognition and allosteric regulation of synaptic vesicle glutamate transporter VGLUT2 [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2025, 32(8): 1479-1487.
- [27] Du X C, Li J S, Li M H, et al. Research progress on the role of type I vesicular glutamate transporter (VGLUT1) in nervous system diseases [J]. *Cell Biosci*, 2020, 10(1): 26.
- [28] Li X H, Miao H H, Zhuo M. NMDA receptor dependent long-term potentiation in chronic pain [J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(3): 531-538.
- [29] 李明超, 叶云, 刘远, 等. 离子型谷氨酸受体在长时程增强产生机制中的研究进展[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2018, 21(16): 1741-1746.
- Li M C, Ye Y, Liu Y, et al. The research progress of ionic glutamate receptor in the mechanism of long-time potentiation (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Practical Nervous Diseases*, 2018, 21(16): 1741-1746.
- [30] Xie S F, Zhu M J, Zhu H Z, et al. Effects of β -asarone on spatial learning and memory impairment by exhaustive exercise-induced fatigue: role of NR-CaMKII-ERK/CREB signal in hippocampus of rats [J]. *Behav Brain Res*, 2024, 471: 115076.
- [31] Hell J W. Binding of CaMKII to the NMDA receptor is sufficient for long-term potentiation [J]. *Sci Signal*, 2023, 16(808): eadk9224.
- [32] Preobraschenski J, Kreutzberger A J B, Ganzella M, et al. Synaptophysin accelerates synaptic vesicle fusion by expanding the membrane upon neurotransmitter loading [J]. *Sci Adv*, 2025, 11(17): eads4661.
- [33] 高伟, 李雪, 刘安南, 等. 头穴丛刺对APP/PS1小鼠海马突触可塑性的影响[J]. *中医杂志*, 2025, 66(21): 2259-2268.
- Gao W, Li X, Liu A N, et al. Effect of scalp cluster-acupuncture on hippocampal synaptic plasticity in APP/PS1 mice (in Chinese) [J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2025, 66(21): 2259-2268.
- [34] 韩永丽, 姚卫杰, 张宝霞, 等. 电针经Gas6/MerTK通路调节FD大鼠胞葬作用减轻十二指肠低度炎症的机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2026, 37(3): 564-570.
- Han Y L, Yao W J, Zhang B X, et al. Effect of electroacupuncture on low-grade duodenal inflammation in functional dyspepsia rats via the Gas6/MerTK efferocytosis pathway (in Chinese) [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2026, 37(3): 564-570.
- [35] Dong S, Zhao L J, Liu J, et al. Neuroanatomical organization of electroacupuncture in modulating gastric function in mice and humans [J]. *Neuron*, 2025, 113(19): 3243-3259.e11.

收稿日期:2026-02-09 修回日期:2026-04-30