

“合募配穴”针刺对肥胖胰岛素抵抗大鼠骨骼肌组织 SIRT1 及 PGC-1 α 表达的影响*

张晓林¹, 陈邵涛², 刘辉辉², 韩怡然², 马德慧², 曹迪³, 刘明军^{2**}

(1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院 武汉 430065; 2. 长春中医药大学针灸推拿学院 长春 130117;
3. 长春市中医院 长春 130000)

摘要:目的 分析“合募配穴”针刺干预对肥胖胰岛素抵抗(obesity and insulin resistance, OIR)大鼠骨骼肌组织中 SIRT1(Sirtuin 1)及 PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α)基因及蛋白表达的影响,探讨“合募配穴”针刺是否能够改善 OIR 状态及效应机制。方法 雄性 SD 大鼠采用经典的“高脂高糖饮食结合低剂量链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)诱导”方法建立 OIR 大鼠模型,随机分为模型组(IR)、白藜芦醇激动剂组(RA)、手法针刺(MA+IR)组,各 10 只,10 只正常大鼠作为空白组(Normal)。干预 4 周后检测各组大鼠 Lee's 指数、IRI、ISI 及骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-1 α mRNA 和蛋白表达水平,同时光镜下观察骨骼肌细胞生物形态结构差异。结果 与模型组比较,针刺组和激动剂组大鼠 Lee's 指数、IRI 水平显著下降,ISI 有所增强($P<0.05$),光镜下骨骼肌细胞生物形态结构尚可,但较空白组生物完整性差,且两组之间未见明显差异;骨骼肌组织中 SIRT1 及 PGC-1 α 蛋白及 mRNA 表达水平均显著上升($P<0.05$)。结论 提示“合募配穴”针刺可调节 OIR 大鼠胰岛素抵抗状态,改善骨骼肌组织病理损伤,其机制可能与上调骨骼肌组织的 SIRT1 及 PGC-1 α 基因及蛋白的表达水平,改善骨骼肌细胞能量代谢相关。

关键词:合募配穴 手法针刺 肥胖胰岛素抵抗(OIR) 骨骼肌

doi: 10.11842/wst.20210525001 中图分类号: R2-03 文献标识码: A

胰岛素抵抗(Insulin resistance, IR)是指多种因素导致机体胰岛素分泌减少或者敏感性降低,从而影响葡萄糖摄取和利用的效率,并且代偿性的分泌过多胰岛素产生高胰岛素血症,以维持血糖的稳定^[1-2],主要表现为降低骨骼肌、肝脏和脂肪等器官和组织对正常浓度的胰岛素生物学效应^[3]。许多研究表明,胰岛素抵抗是肥胖、糖尿病、甲状腺功能亢进等代谢性疾病的核心特征之一,同时此过程贯穿于糖尿病等大多代谢类疾病的整个病程^[4-5]。骨骼肌胰岛素抵抗是糖脂代谢类疾病的早期特征之一,随着异常的进展逐渐出

现全身胰岛素抵抗,严重的甚至引发系列心血管疾病^[6]。PGC-1 α 是一种高度保守的核转录共激活因子,可促进脂粒氧化,以维持持久的肌肉收缩与能量供应,因此与线粒体功能和胰岛素抵抗关系密切^[7]。SIRT1是一种多功能转录调节因子,与胰岛素敏感性、脂肪储存与代谢以及葡萄糖的利用相关^[8]。SIRT1和 PGC-1 α 在机体内通过能量信号轴相互作用,PGC-1 α 通过对 SIRT1 抑制剂烟酰胺或经转录共激活剂实现在乙酰化过程中的增强^[9-10],以达到调节胰岛素对糖脂代谢的影响。

收稿日期:2021-05-25

修回日期:2022-03-15

* 国家自然科学基金委员会面上项目(86174092):“运腹通经”推拿法对中心型肥胖症患者胰岛素抵抗的干预作用及其相关机制研究,负责人:刘明军;国家自然科学基金委员会面上项目(82174525):指压法通过调控 SIRT1/NF- κ B 信号通路对肥胖胰岛素抵抗大鼠抗炎作用的机制研究,负责人:刘明军;吉林省自然科学基金委员会面上项目(YDZJ202201ZYTS195):基于菌-肠-脑轴探讨“运腹通经”推拿法治疗肥胖胰岛素抵抗大鼠的抗炎效应机制,负责人:刘明军。

** 通讯作者:刘明军,博士研究生导师,教授,主要研究方向:中医手法治疗代谢病。

通经调脏针法为长白山通经调脏手法流派经典针刺手法,经刘冠军、李一清、纪青山、王之虹、王富春、刘明军等几代针灸名家总结传承,现已证明对胰岛素抵抗、肥胖、失眠等具有很好的临床疗效^[11-14],该针刺手法以中医基础理论为基础,紧密结合子午流注及天干地支对应脏腑时间,以腹部为主,四肢部、头部为辅。“合募配穴”针刺为其中具有取穴精简、操作简易、效果显著,可标准化传播,无明显疼痛应激副作用等特点的针刺方法之一。深入探索并揭示该针刺方法的生物效应机制,对针刺治疗OIR相关疾病具有重要意义。为探讨“合募配穴”针刺治疗OIR状态的作用及其机制,本实验采用雄性SD大鼠建立OIR模型,应用“合募配穴”针法进行干预,旨在探讨手法针刺是否通过调节SIRT1/PGC-1 α 信号通路来调节增加骨骼肌PGC-1 α 蛋白的表达以改善OIR大鼠的胰岛素抵抗。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选用SPF级8周龄雄性SD大鼠46只,体质量(220 ± 20)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(京)2018-003】;实验动物合格证编号44007200034600,SPF状态下隔离基础饲料饲养,动物实验伦理审批号:2021171。

1.1.2 试剂与仪器

SIRT1激动剂白藜芦醇(80051933)购自Celex Laboratories公司;光学显微镜(BX51型)购自日本OLYMPUS公司;胰岛素检测试剂盒、酶联免疫试剂盒均购自长春昊诚生物科技有限公司;PureLink™ RNA微量提取试剂盒(12183016)、RevertAid RT逆转录试剂盒(K1691)及CellsDirect™ qRT-PCR试剂盒(11753100)均购自Thermo Fisher SCIENTIFIC公司;qPCR仪购自Stratagene公司,Hwato/华佗牌单支平柄针0.18×13 mm购自苏州医疗用品厂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 肥胖胰岛素抵抗模型建立

采用经典高脂高糖饲料诱导联合小剂量STZ腹腔注射,操作时模型组肥胖大鼠按 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 注射STZ溶液,空白组注射等体积的柠檬酸钠缓冲液^[10]。采用评价胰岛素对葡萄糖作用的“金标准”——高胰岛素-正葡萄糖钳夹实验,判断是否造模成功^[15]。

1.2.2 分组

根据完全随机化法从46只大鼠中选取10只大鼠作为空白组,喂养基础饲料;剩余36只高脂高糖饲料诱导联合小剂量STZ($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射,剔除死亡的OIR大鼠,将造模成功的大鼠按照区组随机化法随机分成手法针刺组、模型组、白藜芦醇激动剂组,每组仅保留10只大鼠。

1.2.3 干预方法

手法针刺组大鼠随即接受“合募配穴”针刺干预。将大鼠固定在固定架上,参考《兽医针灸学》^[16]及《实验针灸学》^[17]定位,分别针刺中脘(CV12)、天枢(ST25)、足三里(ST36)穴位,术中进针2 mm,采用捻转手法操作。捻转范围为 360° ,频率为120–160次/min。每个针刺点操作1 min,留针15 min,在此期间每5 min扭转1次。治疗1次/天。空白组、激动剂组和模型组不做针刺处理,但同样抓取固定15 min,以确保它们暴露在与手法针刺组相同的处理和固定条件下。治疗持续5次/周,每次于8:00–10:00之间治疗,干预4周,治疗期间三组继续高脂高糖饲料喂养。

1.2.4 标本留取

在干预第4周末开始禁食不禁水12 h,于次日开始采集标本,用3%水合氯醛腹腔注射1 mL/100 g将大鼠麻醉,心尖取血,采血量3–4支生化黄管,约15 mL,离心后取上层血清静置EP管中,置于 -80°C 冰箱保存备用。取血结束后,迅速打开腹腔,剖取肝脏、胰脏,称肝脏湿重,并取股四头肌,以上组织各取一半置于放有福尔马林溶液的50 mL痰盒中固定^[10],另一部分分别采用锡纸包好编号,且每一只大鼠组织置于同一尼龙丝袜中迅速放入液氮罐备用。

1.2.5 指标检测

用动物天枰及体长测量仪器测量各组大鼠Lee's指数;用相关试剂盒检测血清指标;取适量骨骼肌组织置于10%中性缓冲福尔马林溶液中固定大于24 h;冲洗、脱水、透明,逐步完成石蜡切片制作。脱蜡、染色封片,采用光学显微镜观察,照相,保存;采用定量荧光聚合酶链反应(PCR)(SYBR Green法)检测股四头肌骨骼肌组织中SIRT1和PGC-1 α mRNA的表达水平,取适量的股四头肌骨骼肌组织,分别提取总RNA,纯化RNA,评估RNA纯度,凝胶电泳检测RNA完整性。然后使用PrimeScript™进行逆转录。采用上海桑贡使用ABI3900型高通量DNA合成仪进行引物合成,

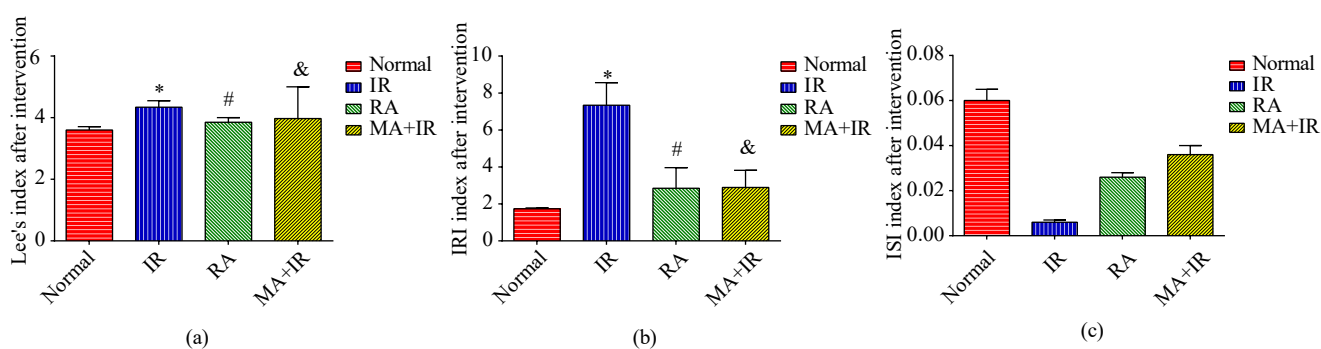


图1 干预4周后各组大鼠 Lee's 指数、IRI、ISI 相对表达情况

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,^① $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与白藜芦醇激动剂组比较,^② $P<0.05$;Sirtuin 1 为 SIRT1; Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α 为 PGC-1 α ; Normal(空白组); IR(模型组); RA(白藜芦醇激动剂组)、MA+IR(手法针刺组)。

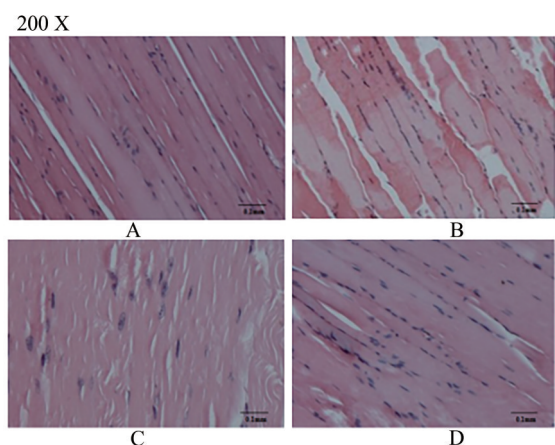


图2 各组大鼠骨骼肌组织病理改变光镜图(HE×200)

注:A为 Normal(空白组);B为 IR(模型组);C为 RA(白藜芦醇激动剂组);D为 MA+IR(手法针刺组)。

合成的引物序列如下: SIRT1 (165 bp) 上游 5'-TGCCATCATGAAGCCAGAGA-3', 下游 5'-CATCGCAGTCTCCAAGAAGC-3'; PGC-1 α (245 bp) 上游 5'-ATCTGTTTCCCCTCATCTTTTCC-3', 下游 5'-TGGGGTGCCTCTTGTGATCT-3'; 采用 SYBR PreMix ex Taq II 试剂盒(RR820A, TAKARA)进行荧光聚合酶链反应, 反应结束后采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 相对定量法进行分析, 定量标准参考 GAPDH 密度, 以空白组作为对照, 进行各组之间的基因表达差异对比。

Western blotting 检测 SIRT1 和 PGC-1 α 蛋白表达水平。取适量的股四头肌骨骼肌组织, 提取总蛋白后, 取 80 μ L 的样品与 20 μ L 的 5 倍样品处理液混合。制备 RhoA 兔抗大鼠 (Ab86297, Abcam) 和 ROCK2 兔抗大鼠 (Ab71598, Abcam) 一抗。GAPDH 作为内参照 (1:1000, 兔抗鼠; Ab9484, Abcam)。在 37 $^{\circ}$ C 复温 30 min

后, 用含吐温 20 的 Tris-Buffer 生理盐水 (TBST) 清洗 3 次, 然后孵育。用 TBST 洗涤后, 加入增强化学发光剂 (ECL)。样品在 Sage Creation 凝胶成像系统中显影并曝光, 每组 Western blotting 条带重复做 3 次。

1.3 统计学方法

样本量参数统计用平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 26.0 (IBM, Armonk, NY, USA) 统计软件进行数据分析, 用 GraphPad Prism 6.0 (GraphPad 软件, La Jolla, CA, USA) 作图。计量资料采用单因素方差分析, 两组间的水平差异采用 t 检验, $P<0.05$, 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Lee's 指数、胰岛素抵抗指数 (IRI)、胰岛素敏感性指数 (ISI) 的表达

Lee's 指数是评价成年大鼠肥胖程度方面的有效指数; 胰岛素抵抗指数 (IRI) 是评价胰岛素靶器官利用葡萄糖的能力; 胰岛素敏感性指数 (ISI) 是描述胰岛素抵抗的程度, 胰岛素敏感性越低, 单位胰岛素的效果越差, 分解糖类的程度越低。为观察“合募配穴”针刺对 OIR 大鼠糖脂代谢的生物效应, 对比实验干预 4 周后各组大鼠 Lee's 指数、IRI、ISI 变化情况, 具体见图 1。

与空白组相比, 模型组 Lee's 指数、IRI 显著增加, ISI 显著降低 ($P<0.05$); 与模型组相比, 手法针刺组和激动剂组 Lee's 指数、IRI 显著下调, ISI 明显增加 ($P<0.05$, $P<0.01$); 手法针刺组和激动剂组相比, Lee's 指数、IRI、ISI 均无明显变化, 无统计学差异 ($P>0.05$)。提示“合募配穴”针刺可提高肥胖糖尿病大鼠胰岛素

敏感性,改善胰岛素抵抗状态,同时改善大鼠肥胖程度。

2.2 骨骼肌光镜的改变

干预4周后,各组大鼠骨骼肌光镜改变见图2。可见空白组大鼠骨骼肌细胞数量正常,肌纤维细长,呈平行排列,同时内部可见形态饱满椭圆形或圆形细胞核;模型组大鼠骨骼肌肌纤维萎缩变性,可见间质脂

肪增生,部分区域有坏死、水肿;手法针刺组和激动剂组骨骼肌细胞形态尚可,但形态还较空白组水平差,且两组之间未见明显差异。提示通经调脏手法针刺可改善肥胖糖尿病大鼠骨骼肌组织病理状态。

2.3 骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-1 α mRNA 表达水平的改变

干预4周后,各组大鼠骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-

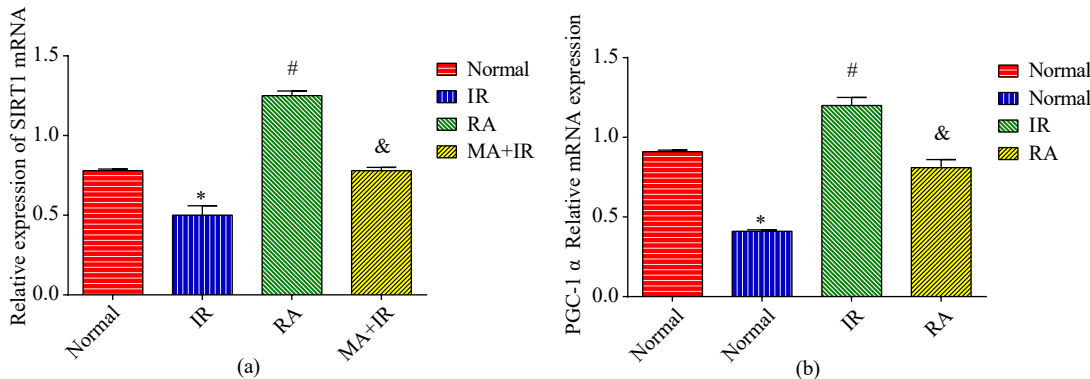


图3 各组大鼠骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-1 α mRNA 相对表达水平情况

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $^{\#}P<0.05$, $^{\&}P<0.01$;与白藜芦醇激动剂组比较, $^{\&}P<0.05$;Sirtuin 1 为 SIRT1;Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α 为 PGC-1 α ;Normal(空白组);IR(模型组);RA(白藜芦醇激动剂组)、MA+IR(手法针刺组)。

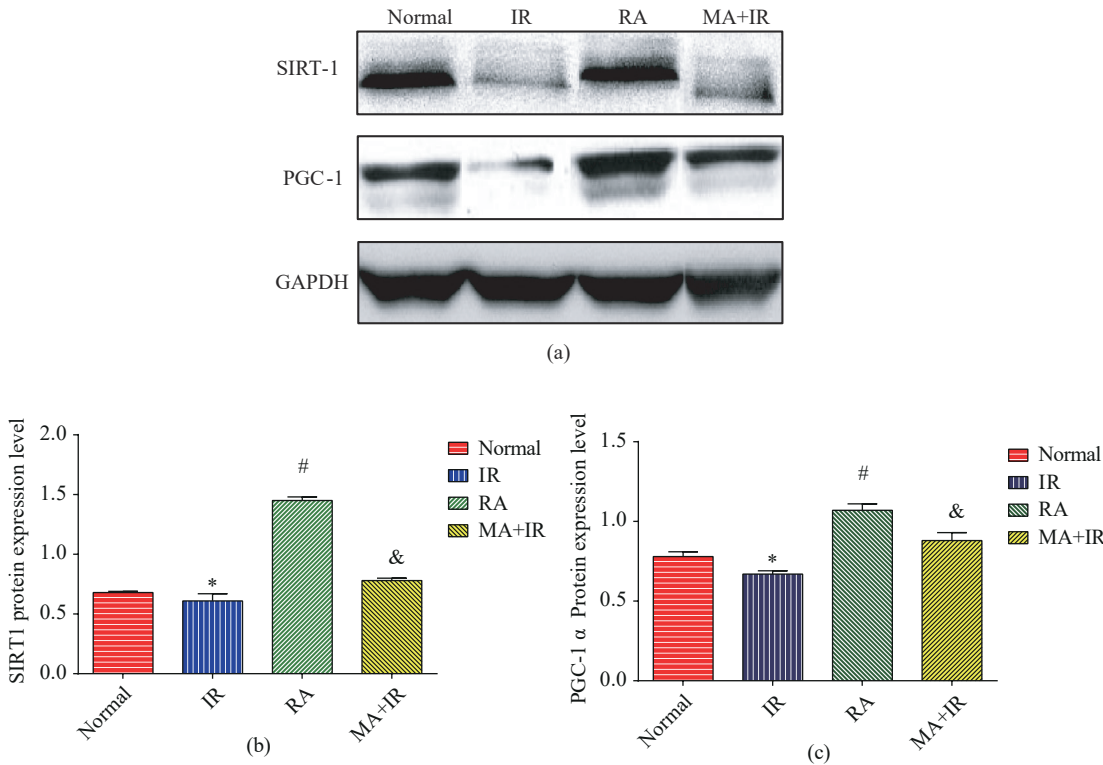


图4 各组大鼠骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-1 α 蛋白相对表达水平

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $^{\#}P<0.05$, $^{\&}P<0.01$;与白藜芦醇激动剂组比较, $^{\&}P<0.05$;Sirtuin 1 为 SIRT1;Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α 为 PGC-1 α ;Normal(空白组);IR(模型组);RA(白藜芦醇激动剂组)、MA+IR(手法针刺组)。

1 α mRNA 表达水平的改变情况见图3。与空白组相比,模型组 SIRT1 与 PGC-1 α mRNA 表达水平降低($P<0.05$);与模型组相比,手法针刺组和激动剂组 PGC-1 α mRNA 表达水平明显提高($P<0.05$, $P<0.01$);与激动剂组相比,手法针刺组 SIRT1 与 PGC-1 α mRNA 表达水平无显著性差异,无统计学意义($P>0.05$)。提示通经调脏手法针刺可调节 SIRT1/PGC-1 α 信号通路提高肥胖糖尿病大鼠骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-1 α mRNA 表达水平。

2.4 骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-1 α 蛋白表达水平的改变

干预4周后,各组大鼠骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-1 α 蛋白表达水平的改变情况见图4。与空白组相比,模型组 SIRT1 与 PGC-1 蛋白表达水平降低($P<0.05$);与模型组相比,手法针刺组和激动剂组 PGC-1 α 蛋白表达水平明显提高($P<0.05$, $P<0.01$);与激动剂组相比,手法针刺组 SIRT1 与 PGC-1 α 蛋白表达水平无显著性差异,无统计学意义($P>0.05$)。提示通经调脏手法针刺可调节 SIRT1/PGC-1 α 信号通路提高 OIR 大鼠骨骼肌组织 SIRT1 与 PGC-1 α 蛋白表达水平。

3 讨论

OIR 致病率高、并发症多,往往继发代谢综合征、II 型糖尿病、心血管疾病、高血压病、脂肪肝和诸多病症,是人类健康的最大潜在威胁。OIR 是一个多因素相互影响并共同作用的疾病状态,胰岛素敏感性降低,血糖代谢异常是引起肥胖和胰岛素抵抗的重要原因,也是造成骨骼肌组织损伤的始动因素。现代治疗多以奥利司他、盐酸二甲双胍缓释片等西药治疗为主,出现腹泻、恶心、心慌、食欲减退等一系列副作用,长期服用会出现继发性失效现象^[18]。作为中医外治法的手法针刺,经过千百年的临床实践总结,特别是通经调脏手法针刺,将先天八卦和后天八卦的辨位思想及天干地支、子午流注的时效生克思维有效结合,已证实治疗 OIR 方面有独特的疗效^[19-21],同时具有无毒副作用的优点^[18]。

该针刺取穴遵循“合募配穴”将六腑的下合穴与本经的募穴配,通过针刺持续刺激天枢、中脘、足三里等腧穴,足三里为足阳明经下合穴,合治内腑主燥化脾湿,生发胃气,增强脾胃功,重在通降;中脘为胃之募,腑之会,又系任脉、手足阳明、太阴、少阳之会所,

故针刺该穴可以达到疏利气机、补益中气、疏理中气之效,加快肠胃蠕动、加速代谢^[22];天枢穴作为手阳明大肠经募穴,是阳明脉气所发,主疏调肠腑,具有理气、行滞、消食的作用,针刺该穴可以显著改善肠腑功能。由此可见合募配穴,一升一降,相互配合,协调纵横,通调气机,阴阳接续,相互协调,增强临床疗效。又足阳明为后天气血生化之根本,水谷之海、五脏六腑之海,具有生化气血,滋养表里之功效,故针刺腹部胃经穴位有助气血生化,加强五脏六腑的功能,促进体内毒素代谢,调节脂肪消耗^[19]。任脉为“脐下肾间动气”所在,刺激任脉膻穴关元、中脘等穴位,通过调节督、任、冲三脉之经气,平衡全身经气运行,以恢复脾胃健运之功效。因此使用“合募配穴”针刺的针刺组干预后的肥胖胰岛素抵抗大鼠 Lee's 指数、IRI 水平与模型组比较,显著下降,ISI 有所增强($P<0.05$);光镜下骨骼肌细胞生物形态结构尚可,但较空白组生物完整性差,且两组之间未见明显差异,也说明了“合募配穴”针刺通过刺激穴位作用相关经络及脏腑可调节 OIR 大鼠胰岛素抵抗状态,改善骨骼肌组织病理损伤。

在诸多胰岛素抵抗相关的基础研究中,已经证明了机体发生胰岛素抵抗的标志包括骨骼肌内甘油三酯的沉积^[23-24]。胰岛素抵抗时,机体骨骼肌内葡萄糖有氧氧化从正常的增多转变为减少。现代许多研究证实,调控细胞能量输出的信号网络由 SIRT1 和 PGC-1 α 形成,骨骼肌细胞能量代谢和 SIRT1/PGC-1 α 信号通路联系密切相关,高糖环境刺激导致的氧化应激过程中均检测到 SIRT1/PGC-1 α 表达下调,从而导致相关细胞线粒体氧化供能减少,可使得骨骼肌等细胞损伤,加重糖代谢紊乱,造成肥胖等并发症进程加快^[25-30]。研究表明白藜芦醇可作为 SIRT1 相关研究的激动剂,且显著上调 SIRT1/PGC-1 α 号通路的表达^[30-32]。作为 Sirtuins 蛋白家族最具代表性的因子, SIRT1 位于细胞核具有脱乙酰化酶的活性,其乙酰化可以作用于组蛋白、转录调节因子或者其他蛋白进行修饰,调控基因的表达,主要有抑制细胞凋亡、能量代谢、抗炎和抗氧化应激调节等多种生物调节作用^[33]。多项研究表明,激发 SIRT1 的正常表达不仅可以减轻细胞损伤和凋亡,更可以调控能量代谢等多种相关信号通路以保持细胞和器官的正常功能^[34-37]。

本实验研究表明,在 OIR 模型大鼠中, SIRT1 表达较空白组大鼠显著减少,而增加“合募配穴”手法针刺

可上调OIR模型大鼠SIRT1表达水平,调控胰岛素敏感度,从而促进骨骼肌细胞能量代谢。PGC-1 α 主要分布在心脏、骨骼、脂肪组织、肾脏及肝脏等高能量需求且富含线粒体的组织中,刺激相关器官细胞中线粒体的能量代谢中间产物合成以及增强线粒体的能量代谢能力是其关键生物学功能^[25,38-39]。实验观察到OIR模型大鼠骨骼肌组织PGC-1 α 表达显著减少,而手法干预治疗4周后大鼠的PGC-1 α 表达水平显著增加($P<0.05$),其通过提高线粒体的氧气结合功能、氧化磷酸化相关酶的活力促进线粒体中的生物合成^[40-41]。体内研究证实,骨骼肌肌肉特异性PGC-1 α 过表达可以促进mtDNA转录及线粒体呼吸链酶的活性。Lakshmanan等^[42]在STZ诱导的糖尿病大鼠模型

中亦观察到PGC-1 α 表达的减少。由此可见,PGC-1 α 表达水平的上升可调节线粒体的呼吸功能、氧化磷酸化相关酶的活力,从而刺激线粒体的生物合成,恢复能量代谢稳态,减轻骨骼肌细胞的氧化应激反应。

综上,基于“合募配穴”的手法针刺可上调OIR骨骼肌组织的SIRT1及PGC-1 α 表达水平,改善骨骼肌细胞病理损伤,胰岛素敏感性,同时有效降低Lee's指数,抑制氧化应激,从而减轻体重,达到改善胰岛素抵抗状态的目的。该实验研究推测OIR与骨骼肌细胞能量代谢相关信号通路异常密切相关,为进一步探究手法针刺治疗OIR的机制提供了新的研究思路,同时为其减药治疗提供干预手段参考。

参考文献

- 邵灿灿,张国豪.饮酒对胰岛素抵抗的影响及其机制的研究进展.重庆医学,2017,46(13):1855-1857,1859.
- 张欣,尚坤,吴兴全,等.腹部推拿对高脂饮食诱发肥胖大鼠胰岛素抵抗的改善作用机制.中华中医药杂志,2021,36(2):728-731.
- 唐远谋,陈祥贵,焦士蓉.高脂饮食诱导的胰岛素抵抗研究进展.西华大学学报(自然科学版),2013,32(2):98-102.
- 张全江.长期有氧运动通过Akt-eNOS信号机制增强心肌胰岛素敏感性.西安:第四军医大学博士学位论文,2007.
- 甄云凤,冯静,唐勇,等. MicroRNA-802对胰岛素抵抗的骨骼肌细胞PI3K/Akt通路的影响.解放军医学杂志,2020,45(8):798-803.
- 张静,陈佩杰,肖卫华.肥胖导致骨骼肌胰岛素抵抗——炎症因子的介导作用及运动的改善效应.中国运动医学杂志,2020,39(3):226-231.
- 王瑞,常永生,方福德.过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1,能量代谢的共激活因子.中国医学科学院学报,2009,31(6):773-777.
- 徐芬,梁凤霞,陈瑞,等.标本配穴电针对胰岛素抵抗大鼠胰岛素敏感性、骨骼肌SIRT1蛋白表达的影响.中医杂志,2014,55(4):328-332.
- 兰天,刘巍梦,邹阳,等. SIRT1过表达介导PPAR γ -PGC1 α -NRF2通路对肥胖症大鼠肝脏脂肪沉积和变性及氧化应激的调节作用.广西医科大学学报,2020,37(3):347-355.
- 吴兴全.运腹通经推拿法改善肥胖2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的作用机制研究.长春:长春中医药大学博士学位论文,2018.
- 孙雨薇.“通经调脏”针刺法治疗中风后肢体痉挛的临床研究.长春:长春中医药大学硕士学位论文,2017.
- 齐勋.长白山通经调脏手法流派学术特色的整理与研究.长春:长春中医药大学硕士学位论文,2015.
- 张欣,刘明军,王之虹,等.长白山通经调脏手法流派溯源与发展.长春中医药大学学报,2014,30(4):745-747.
- 矫俊东,徐立光,纪青山.纪青山教授“通腑调脏针法”治疗慢性胃炎经验总结.世界最新医学信息文摘,2020,20(66):211-212.
- Andres R, Swerdloff R, Pozefsky T, et al. Manual feedback technique for the control of blood glucose concentration[J]. Automation in Analytical Chemistry, 1966.
- 杨英.兽医针灸学.北京:高等教育出版社,2006:8.
- 余曙光,郭义.实验针灸学.上海:上海科学技术出版社,2014:2.
- Zhang X L, Cao D, Yan M H, et al. The feasibility of Chinese massage as an auxiliary way of replacing or reducing drugs in the clinical treatment of adult type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(34): e21894.
- 李海燕,马朝阳,徐芬.“标本配穴”电针疗法配合行为疗法治疗单纯性肥胖疗效及对胰岛素抵抗、血脂水平的影响.中华中医药学刊,2018,36(8):1848-1851.
- 罗丹.针刺通过SIRT1介导的抗炎通路治疗胰岛素抵抗肥胖机制研究.武汉:华中科技大学硕士学位论文,2018.
- 老锦雄,邓聪.针刺对肥胖大鼠胰岛素抵抗状态的干预作用.中国老年学杂志,2013,33(5):1090-1091.
- 刘明军,张晓林,陈邵涛,等.指压法对单纯性肥胖模型大鼠炎症细胞因子的影响研究.长春中医药大学学报,2021,37(3):541-543.
- Kelley D E, Mandarino L J. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. *Diabetes*, 2000, 49(5): 677-683.
- 赵军,徐晓阳,付强.运动对胰岛素抵抗骨骼肌AMPK/SIRT1/PGC-1 α 轴影响的研究述评.体育学刊,2010,17(11):106-110.
- 张子怡,舒田,薄海,等.低氧和低氧复合运动通过ERS-miR-208b-PGC-1 α 途径调控骨骼肌线粒体生物合成.中国运动医学杂志,2020,39(5):368-373.
- 郝建华,包毅敏,包芸,等.大黄酒黄连泻心汤对2型糖尿病大鼠骨骼肌中AMPK α -PGC-1 α -GLUT4表达的影响.中国医药导报,2019,16(33):13-18.

- 27 吴菊花, 钟红梅, 杨亚南, 等. 低氧运动对营养性肥胖大鼠骨骼肌 AMPK-PGC-1 α 的影响. 中国运动医学杂志, 2019, 38(6): 486-492.
- 28 张媛, 张念云, 丁树哲. AMPK、p38MAPK 信号通路参与调控电刺激诱导骨骼肌细胞 PGC-1 α 基因表达. 西安体育学院学报, 2018, 35(1): 88-95.
- 29 张盼盼, 郑宁, 张翠, 等. 有氧运动对 12 月龄大鼠腓肠肌 PGC-1 α /Sirt3 的影响. 中国运动医学杂志, 2016, 35(11): 1021-1024.
- 30 刘静, 朱智耀, 高彦彬, 等. 糖脂平对胰岛素抵抗大鼠 AMPK/PGC-1 α 信号通路的影响. 世界中西医结合杂志, 2016, 11(8): 1087-1090.
- 31 张好好. SIRT1 在改善高脂饮食诱导的胰岛素抵抗模型中的作用及其机制研究. 武汉: 华中科技大学博士学位论文, 2012.
- 32 王永久, 宫珍卿, 王志辉, 等. 白藜芦醇通过调节 SIRT1/AMPK 信号通路保护氧-葡萄糖剥夺大鼠皮质神经元. 国际脑血管病杂志, 2015, 23(3): 193-197.
- 33 Yin Y Y, Wu X L, Peng B, *et al.* Curcumin improves necrotising microscopic colitis and cell pyroptosis by activating SIRT1/NRF2 and inhibiting the TLR4 signalling pathway in newborn rats. *Innate Immun*, 2020, 26(7): 609-617.
- 34 Sayed A M, Hassanein E H M, Salem S H, *et al.* Flavonoids-mediated SIRT1 signaling activation in hepatic disorders. *Life Sci*, 2020, 259: 118173.
- 35 Tu Y Y, Zhu M H, Wang Z Z, *et al.* Melatonin inhibits Müller cell activation and pro-inflammatory cytokine production via upregulating the MEG3/miR-204/Sirt1 axis in experimental diabetic retinopathy. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11): 8724-8735.
- 36 Nikroo H, Hosseini S R A, Fathi M, *et al.* The effect of aerobic, resistance, and combined training on PPAR- α , SIRT1 gene expression, and insulin resistance in high-fat diet-induced NAFLD male rats. *Physiol Behav*, 2020, 227: 113149.
- 37 Gencoglu H. Maca modulates fat and liver energy metabolism markers insulin, IRS1, leptin, and SIRT1 in rats fed normal and high-fat diets. *Arch Physiol Biochem*, 2020, 19: 1-7.
- 38 王继, 杨中亚, 张龙, 等. AMPK/PGC-1 α 在有氧运动改善 2 型糖尿病大鼠骨骼肌萎缩中的作用. 中国组织工程研究, 2020, 24(20): 3180-3185.
- 39 王永久, 宫珍卿, 王志辉, 等. 白藜芦醇通过调节 SIRT1/AMPK 信号通路保护氧-葡萄糖剥夺大鼠皮质神经元. 国际脑血管病杂志, 2015, 23(3): 193-197.
- 40 金蕾蕾, 陈娟, 王换苗, 等. PML-PGC-1 α 轴介导线粒体代谢参与顺铂诱导的卵巢癌细胞的调节. 川北医学院学报, 2020, 35(4): 598-602.
- 41 卜玲玲, 刘焕, 杨娇, 等. DEHP 经 SIRT1/PGC-1 α 通路诱导的 HepG2 细胞线粒体损伤效应. 中国环境科学, 2020, 40(8): 3621-3626.
- 42 Lakshmanan A P, Watanabe K, Thandavarayan R A, *et al.* Telmisartan attenuates oxidative stress and renal fibrosis in streptozotocin induced diabetic mice with the alteration of angiotensin-(1-7) mas receptor expression associated with its PPAR- γ agonist action. *Free Radic Res*, 2011, 45(5): 575-584.

Effect of Acupuncture at "He-Mu combination" on Expression of SIRT1 and PGC-1 α in Skeletal Muscle of Obese Insulin Resistance Rats

Zhang Xiaolin¹, Chen Shaotao², Liu Huihui², Han Yiran², Ma De hui², Cao Di³, Liu Mingjun²

(1. Acupuncture and Bone Injury Academy, Hubei University of Chinese medicine, Changchun 130117, China;

2. Acupuncture and Tuina Academy, Changchun University of Chinese medicine, Changchun 130117, China;

3. Changchun Hospital of Chinese medicine, Changchun 130000, China)

Abstract: Objective To analyze the effect of "He-Mu combination" acupuncture intervention on SIRT1 (Sirtuin 1) and PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α) in skeletal muscle of Obese insulin resistance (OIR) rats, And explore whether "He-Mu combination" acupuncture can improve OIR state and its mechanism. Methods Male Sprague Dawley (SD) rats were fed with the classic method of "high fat and high glucose diet combined with low-dose streptozotocin (STZ) induction" to establish OIR rats model, They were randomly divided into model group (IR), Resveratrol agonist group (RA) and Manual acupuncture (MA + IR) group, with 10 rats in each group; Ten normal rats were used as the blank group (Normal). After 4 weeks of intervention, The levels of Lee's index, IRI and ISI were measured, And detect SIRT1 and PGC-1 α in skeletal muscle tissue mRNA and protein expression levels. At the same time, the differences of biomorphic structure of skeletal muscle cells were observed under light microscope. Results Compared with the IR group, the Lee's index and IRI level of rats in the acupuncture group and agonist group decreased

significantly, and the ISI level increased ($P<0.05$); Under light microscope, the biomorphic structure of skeletal muscle cells was nearly complete, but the biological integrity was worse than that of the Normal group, and there was no significant difference between the two groups; SIRT1 and PGC-1 α in skeletal muscle The expression levels of protein and mRNA increased significantly ($P<0.05$). Conclusion "He-Mu combination" acupuncture can regulate insulin resistance state in obese rats with insulin resistance and improve the pathological damage of skeletal muscle tissue. The mechanism may be related to up regulating the expression of SIRT1 and PGC-1 α in skeletal muscle tissue and improving energy metabolism of skeletal muscle cells.

Keywords: "He-Mu combination", Manual acupuncture, Obesity insulin resistance(OIR), Skeletal muscle

(责任编辑: 刘玥辰, 审稿人: 王瑀、张志华)