

## · 基础研究 ·

电针对鱼藤酮诱导的帕金森病模型大鼠黑质内 c-Jun 氨基末端激酶及  $\gamma$  干扰素的影响

马骏 龚元勋 王述菊 王彦春 曾晓玲 甘水咏 梁艳

**【摘要】目的** 观察电针对帕金森病(PD)模型大鼠黑质内 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号通路及  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )的影响。**方法** 选取雄性健康 SD 大鼠 32 只,按照随机数字表法将其分为正常组、假手术组、模型组及电针组,每组 8 只。模型组和电针组大鼠经颈背部注射鱼藤酮[1 mg/kg,溶于一定比例二甲亚砜(DMSO)和生理盐水中,浓度 0.25 mg/ml],假手术组经颈背部注射同剂量的 DMSO 和生理盐水混合液,正常组不进行特殊干预。PD 大鼠造模成功后,在电针组大鼠“风府”、“太冲”穴位进行治疗。治疗结束后,对 4 组大鼠进行行为学观察及敞箱实验。采用免疫蛋白印迹法检测 4 组大鼠脑内酪氨酸羟化酶(TH)、磷酸化 c-Jun 和 IFN- $\gamma$  的表达情况。**结果** 模型组大鼠表现出明显的 PD 综合征,与正常组和假手术组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。敞箱实验结果显示,模型组大鼠水平运动[(19.12 ± 2.34)分]、垂直运动活性[(5.27 ± 1.04)分]较正常组和假手术组明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。电针治疗后,大鼠运动活性较模型组明显增强,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与正常组和假手术组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与正常组比较,模型组大鼠黑质区 TH 蛋白(0.183 ± 0.021)表达显著减少,磷酸化 c-Jun(0.388 ± 0.028)和 IFN- $\gamma$  蛋白(0.453 ± 0.033)表达显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与正常组比较,电针组大鼠黑质区 TH 蛋白(0.324 ± 0.054)表达有所减少,磷酸化的 c-Jun(0.207 ± 0.059)和 IFN- $\gamma$  蛋白(0.239 ± 0.022)表达有所增加,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与模型组比较,电针组大鼠黑质区 TH 蛋白明显增加,磷酸化的 c-Jun 和 IFN- $\gamma$  蛋白表达明显减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 电针刺刺激可降低大鼠黑质区 c-Jun 及炎症因子 IFN- $\gamma$  的表达水平,对 PD 模型大鼠体内 JNK 信号通路及疾病进展起到一定的调节作用。

**【关键词】** 帕金森病; 电针; 丝裂原活化蛋白激酶/c-Jun 氨基末端激酶; 酪氨酸羟化酶;  $\gamma$ -干扰素

**Effect of electroacupuncture on c-Jun amino terminal kinase signaling pathway and inflammatory cytokines interferon- $\gamma$  in substantia nigra cells of rotenone-induced rats model of Parkinson's disease** Ma Jun\*, Gong Yuanxun, Wang Shuju, Wang Yanchun, Zeng Xiaoling, Gan Shuiyong, Liang Yan. \* College of Acupuncture & Orthopedics, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

Corresponding author: Wang Shuju, Email: gradfu@sina.com

**【Abstract】Objective** To observe the effects of electroacupuncture (EA) on c-Jun amino terminal kinase (JNK) signaling pathway and inflammatory cytokines interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) in substantia nigra (SN) cells of rotenone-induced rats model of Parkinson's disease (PD), and explore the underlying mechanism of EA on PD. **Methods** A total of 32 male Sprague-Dawley mice were randomly and evenly divided into a normal group, a sham-operation group, a model group and an EA group. Model group and EA group were injected intradermally with rotenone (1 mg/kg, dissolved in DMSO and saline, concentration: 0.25 mg/ml) on the nape of neck. Sham-operation group was injected the same dose of DMSO and saline. Normal group had no intervention. EA group was applied to Fengfu (DU16) and Taichong (LR3) acupoints after the establishment of PD model in rats. Behavioral assessment was conducted after the treatments, the rats were sacrificed for sampling substantia nigra tissue to detect the expressions of tyrosine hydroxylase (TH), p-c-Jun amino terminal kinase (p-c-Jun) and interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) protein with Western blotting (WB). **Results** Model rats showed significant PD syndrome characteristics, comparing with normal group and sham group, the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The results of open box test

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.010.004

基金项目:国家自然科学基金项目(81273863);湖北省教育厅高等学校优秀中青年科技创新团队计划项目(T201308);湖北省教育厅科研项目(Q20121608)

作者单位:430065 武汉,湖北中医药大学针灸骨伤学院(马骏、王述菊、王彦春、曾晓玲、甘水咏);湖北中医药大学(龚元勋、梁艳)

通信作者:王述菊,Email:gradfu@sina.com

showed that the scores of model group rats decreased significantly in terms of the horizontal movement [ $(19.12 \pm 2.34)$  points] and vertical locomotor activity [ $(5.27 \pm 1.04)$  points] when compared with normal group and sham group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). After EA treatment, locomotor activity of rats increased significantly when compared with model group ( $P < 0.05$ ), however, the normal group and sham group was not statistically and significantly different in locomotor activity ( $P > 0.05$ ). Compared with normal group, the expression of TH protein in  $(0.183 \pm 0.0213)$  reduced significantly and the expressions of p-c-Jun  $(0.388 \pm 0.0283)$  and IFN- $\gamma$  protein  $(0.453 \pm 0.0332)$  increased significantly in model group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with normal group, the expression of TH protein  $(0.324 \pm 0.0538)$  reduced and the expressions of p-c-Jun  $(0.207 \pm 0.0592)$  and IFN- $\gamma$  protein  $(0.239 \pm 0.0215)$  increased in EA group, the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). Compared with model group, the expression of TH protein increased significantly in EA group ( $P < 0.05$ ), the expressions of p-c-Jun and IFN- $\gamma$  protein reduced significantly in EA group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** EA therapy may reduce the expression of IFN- $\gamma$  protein in SN of PD rats model by regulating the expression of JNK/mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway, which may delay the process of PD.

**【Key words】** Parkinson's disease; Electroacupuncture; Mitogen-activated protein kinase/c-Jun amino terminal kinase; Tyrosine hydroxylase; Interferon- $\gamma$

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是临床上的常见病之一, 是一种严重影响中老年人身体健康和生活质量的疾病, 主要由锥体外系病变引起<sup>[1-2]</sup>。随着病变的进展, 患者逐渐出现肌肉僵硬、运动迟缓、肢体静止性震颤等临床症状, 严重影响其生活质量<sup>[3]</sup>。目前, 有关 PD 的发病机制尚未完全阐明。丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinases, MAPK) 信号通路广泛存在于从酵母到哺乳动物的各种细胞中, 在正常生命活动中扮演着重要角色, 主要参与细胞的增殖、分化、转化及凋亡, 与脑发育、糖尿病、PD、癌症、炎症等疾病密切相关<sup>[4]</sup>。有研究发现, PD 的病理进程伴随有炎症反应, 其具体机制可能与相关信号通路的激活有关<sup>[5]</sup>。随着对 MAPK 家族研究的不断深入, 越来越多的证据表明 MAPK 与 PD 的发病存在密切关系, 通过对 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 信号通路的活化过程及相关底物进行分析, 推测 JNK 信号通路和  $\gamma$  干扰素 (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 与 PD 的炎症病理改变相关, 两者的共同作用可能影响着 PD 的发病及病程进展。本研究通过观察电针对 PD 模型大鼠 JNK 信号通路的影响, 探讨 PD 大鼠黑质内 JNK 信号通路及炎症因子 IFN- $\gamma$  的变化, 旨在为 PD 发病机制及治疗靶点研究提供一定的理论基础。

## 材料与方法

### 一、实验动物

选取健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 32 只, 体重  $(180 \pm 20)$  g, 由华中科技大学同济医学院实验动物医学部提供, 合格证号 SCXK (鄂) 2010-0009。所有动物均在通风良好的条件下分笼饲养, 自由摄食及饮水。

### 二、主要试剂及仪器

鱼藤酮 (美国 Sigma 公司), 二甲亚砜 (dimethylsul-

foxide, DMSO) (国药集团化学试剂有限公司), 兔抗鼠酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 单克隆抗体、 $\beta$ -actin 抗体、辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记羊抗兔二抗 (武汉产), 丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、苯甲基硫酰氟 (pheylmethylsulfonyl fluoride, PMSF)、裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (中国碧云天公司), 聚偏二氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 产自美国 Millipore 公司, X 光胶片 (柯达), 显影定影试剂盒 (武汉产), 30 号 0.5 寸不锈钢毫针 (苏州产), G6805-2 型电针治疗仪 (上海产)。

### 三、模型制作及分组

32 只大鼠适应环境 1 周后, 采用随机数字表法将其分为正常组、假手术组、模型组、电针组, 每组 8 只。根据 Betarbet<sup>[6-7]</sup> 及冯媛等<sup>[8]</sup> 的造模方法, 采用颈背部皮下注射鱼藤酮法制备 PD 大鼠模型, 用 DMSO 和生理盐水溶解鱼藤酮, 配置成  $0.25 \text{ mg/ml}$  溶液 (鱼藤酮:DMSO:生理盐水 =  $1 \text{ g}:3.5 \text{ L}:0.5 \text{ L}$ ), 模型组和电针组大鼠给予注射鱼藤酮溶液 ( $1 \text{ mg/kg}$ ), 假手术组经颈背部注射同剂量的 DMSO 和生理盐水混合液 (DMSO:生理盐水 =  $3.5 \text{ L}:0.5 \text{ L}$ ), 每日 1 次, 连续 14 d, 正常组不进行特殊干预。参照 Chen 等<sup>[10]</sup> 的行为学评分标准, PD 模型大鼠出现典型的毛色变化 (变黄变脏)、弓背、拘捕能力减弱、震颤等表现, 则视为造模成功。

### 四、针刺方法

PD 大鼠造模成功后, 给电针组大鼠穿上自制的鼠衣固定, 参照华兴邦等<sup>[11]</sup> 制订的《实验动物穴位图谱》, 取“风府”、“太冲”穴进行治疗。用 13 mm 的毫针针刺, 进针约 4 mm, 与 G6805-2 型电针治疗仪连接, 正极接“风府”穴, 负极接“太冲”穴, 连续波, 频率为 2 Hz, 刺激强度以大鼠腿部轻微抽动为度 ( $2 \sim$

6 mA), 治疗 20 min, 每日 1 次, 7 d 为 1 疗程, 共治疗 2 个疗程。正常组、假手术组、模型组大鼠每天在相同时间抓取固定, 但不给予电针治疗, 4 组动物同步喂养、取材。

### 五、观察指标检测

1. 行为学检测: 采用敞箱实验测试大鼠的自主活动能力和运动协调性<sup>[12]</sup>。敞箱实验又称为自由活动实验, 自制敞箱(长×宽×高为 100 cm×100 cm×50 cm), 底部刻有 25 cm×25 cm 的格子 16 个。内壁涂黑, 将大鼠放入正中的格内。大鼠适应环境 10 min 后, 计数 5 min 内大鼠水平运动穿梭距离和垂直运动的次数(双前肢离开地面 1 cm 以上站立的次数)。水平运动计分: 大鼠穿过 1 格(双前肢以上跨入)为 1 分, 沿直线行走时, 每 10 cm 为 1 分。垂直运动计分: 以大鼠双足离开地面为标志, 直至放下双足为 1 分。实验均在末次注射后的第 2 天上午 9:00~12:00 之间进行, 实验室内保持暗光、安静条件, 2 次实验之间将箱底打扫干净。

2. 免疫蛋白印迹检测: 行为学检测结束 24 h 后, 将大鼠用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉。将完全麻醉后的大鼠迅速断头, 取出大脑, 在冰面上迅速分离出黑质, 放置于 -80 °C 冰箱中保存。检测步骤如下: ①大鼠大脑黑质蛋白提取及测定——将黑质组织放在平皿中, 加入适量新鲜配制的裂解液(按每 100 g 组织加 1 ml 裂解液的比例配制)。在冰上用剪刀剪碎大鼠黑质组织, 在温度为 4 °C 的情况下, 以 3000 r/min 的速度离心 5 min, 离心半径 3 cm, 分离并弃溶液上清, 用预冷的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)洗涤组织沉淀。直至液体无红色后, 将剩余组织沉淀转移至玻璃制匀浆器中。每 30 mg 组织加裂解液 300  $\mu$ l, 冰上反复匀浆 30~60 min, 4 °C 条件下, 以 14 000 r/min 的速度离心 15 min 后, 离心半径 3 cm, 取上清溶液; ②电泳——取适量裂解液与匀浆组织混合。测出蛋白浓度后, 分别从样品中取 50  $\mu$ g 总蛋白上样电泳。根据蛋白分子量配置成 12% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳, 根据预染中 Marker 的显示, 判断目的蛋白是否得到充分分离, 若已充分分离, 则立即停止电泳; ③转膜(湿转法)——取出凝胶, 根据 Marker 的结果, 切下所需的目的条带, 使用蒸馏水冲洗条带, 剪取与聚丙烯酰胺凝胶大小一致的 PVDF 膜和滤纸。用甲醇将 PVDF 膜浸泡数秒后同滤纸一起浸泡于电转缓冲液中。按照黑板→纤维垫→滤纸→凝胶→PVDF 膜→滤纸→纤维垫→白色板的顺序依次放好。夹紧上述按顺序排列的板材后, 将其整体放入转膜仪内。转膜条件: 白细胞介素 1 $\beta$ (interleukin 1beta, IL-1 $\beta$ ), 200 mA, 50 min; 肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis fac-

tor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IFN- $\gamma$ , 200 mA, 60 min; TH、p-c-Jun, 200 mA, 90 min; ④封闭——用封闭液浸泡 PVDF 膜, 放置于室温下, 摇床封闭 2 h; ⑤一抗——用封闭液稀释对应的一抗, 将 PVDF 膜浸泡于一抗溶液中孵育, 在温度为 4 °C 下孵育过夜。IL-1 $\beta$ 、p-c-Jun、TH 采用 1:200 的比例稀释, TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  采用 1:800 的比例稀释; ⑥二抗——充分洗涤 PVDF 膜 5~6 次, 每次 5 min 左右, 用封闭液稀释后, 用相应的 HRP 标记二抗按 1:40 000 的比例稀释。将 PVDF 膜浸泡于稀释后的二抗孵育液中, 在 37 °C 的温度下摇床孵育 2 h; ⑦显色曝光——洗涤 PVDF 膜 5~6 次, 每次 5 min 左右。在每张 PVDF 膜上滴加适量的底物液。将溶液孵育数分钟。待荧光带显示清晰后, 用滤纸仔细吸去周围多余的底物液。将其覆上保鲜膜。放置在 X 光胶片中压片, 之后依次放入显影液和定影液中显影、定影。所有印迹实验至少重复 3 次, 用扫描仪测定条带的面积与灰度值, 得出积分灰度值, 采用 BandScan 软件对目标条带进行灰度分析, 相对密度采用蛋白灰度值(蛋白含量)/内参灰度值(actin 蛋白含量)的比值表示。

### 六、统计学分析

采用 SPSS 16.0 版统计学软件包进行数据处理, 结果采用( $\bar{x} \pm s$ )形式表示, 数据比较采用单因素方差分析和  $q$  检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、各组大鼠行为学及敞箱实验结果

注射鱼藤酮后第 2 天, 模型组、电针组有大鼠开始表现出捕捉时反抗减弱的现象, 随后出现主动活动减少、爬行活动缓慢、震颤、拱背状姿势、瞬目减少、对刺激逃避反应慢等类似 PD 症候群特征, 且注射鱼藤酮后, 大鼠由于自我清洁能力下降, 其毛色逐渐发黄、变脏, 有掉毛现象。部分大鼠有轻微口腔出血、肌肉震颤、全身抖动、四肢发僵等类似 PD 症状。随着造模天数增加, 上述现象更加明显。参照常宇涛等<sup>[13]</sup>行为学评分标准, 本实验中 PD 大鼠表现典型。敞箱实验结果显示, 模型组大鼠水平运动、垂直运动活性较正常组和假手术组明显降低( $P < 0.05$ ); 电针治疗后, 大鼠运动活性较模型组明显增强( $P < 0.05$ ), 与正常组和假手术组无明显差异( $P > 0.05$ ); 正常组与假手术组敞箱实验结果间比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 详见表 1。

### 二、各组大鼠蛋白免疫印迹检测结果

与正常组、假手术组比较, 模型组 TH 蛋白含量明显降低, p-c-Jun、IFN- $\gamma$  蛋白含量明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与正常组、假手术组比较, 电针

表 1 各组大鼠敞箱实验结果(分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	水平运动	垂直运动
正常组	8	58.26 ± 4.31	18.32 ± 1.93
假手术组	8	55.19 ± 3.63	16.05 ± 1.33
模型组	8	19.12 ± 2.34 <sup>ab</sup>	5.27 ± 1.04 <sup>ab</sup>
电针组	8	35.06 ± 1.85 <sup>c</sup>	10.38 ± 1.52 <sup>c</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与假手术组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

组 TH 蛋白含量较低,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与模型组比较,电针组 TH 蛋白含量明显增加,p-c-Jun、IFN- $\gamma$  蛋白含量明显减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。正常组与假手术组各指标结果间比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),详见表 2、图 1。

表 2 各组大鼠 TH、p-c-Jun、IFN- $\gamma$  免疫蛋白印迹检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	TH	p-c-Jun	IFN- $\gamma$
正常组	8	0.340 ± 0.036	0.083 ± 0.026	0.210 ± 0.025
假手术组	8	0.513 ± 0.059	0.093 ± 0.057	0.247 ± 0.060
模型组	8	0.183 ± 0.021 <sup>ab</sup>	0.388 ± 0.028 <sup>ab</sup>	0.453 ± 0.033 <sup>ab</sup>
电针组	8	0.324 ± 0.054 <sup>c</sup>	0.207 ± 0.059 <sup>c</sup>	0.239 ± 0.022 <sup>c</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与假手术组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

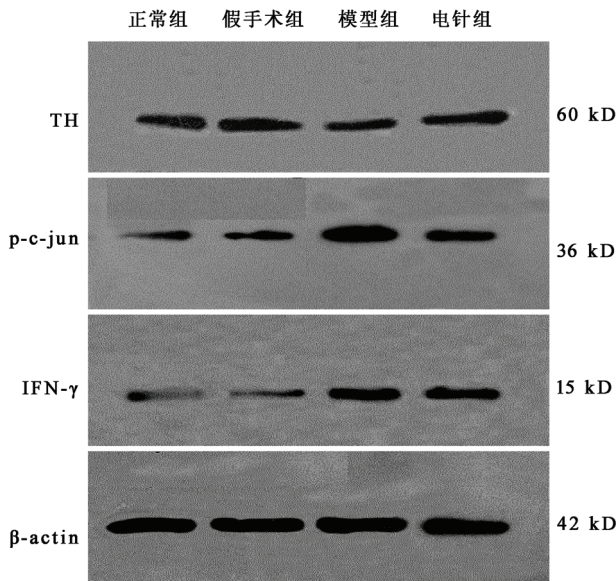


图 1 各组大鼠大脑黑质区 TH、p-c-Jun、IFN- $\gamma$  的电泳结果

## 讨 论

MAPK 信号通路的主要作用是将细胞外刺激信号传递到细胞核内,其普遍存在于哺乳动物体内。目前已知的 MAPK 有细胞外信号调节激酶 (extracellular-signal regulated protein kinase, ERK)、JNK/应急激活蛋白激酶 (stress-activated protein kinase, SAPK)、p38 及 ERK5/大丝裂原活化蛋白激酶 1 (big mitogen-activated

protein kinase 1, BMK1), 这些 MAPK 信号通路对调控细胞增殖具有重要作用<sup>[14-15]</sup>。该通路的激活可直接或间接调控活化蛋白-1、转录因子蛋白家族、信号转录传导子和活化子的活化,上述转录因子与炎症疾病存在一定联系<sup>[16]</sup>。动物实验表明,MAPK 通路抑制剂能抑制多种炎症因子的产生,阻断炎症反应,并且具有特异性好、作用强等特点<sup>[17]</sup>。JNK 激酶也被称为应激活化蛋白激酶,该信号通路可被细胞应激(紫外线辐射等)和细胞因子(生长因子、IL-1、TNF 等)刺激激活。研究表明,生长因子刺激激活 JNK 依赖于 Ha-Ras 途径,而 TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  等致炎细胞因子则通过 Ha-Ras 非依赖性方式激活 JNK<sup>[3]</sup>。

PD 患者大脑内促炎性因子的高水平表达和炎症反应被认为是加重疾病进展的一个主要因素<sup>[18]</sup>。有研究发现,磷酸化的 JNK 和 p38MAPK 在尸检 PD 患者脑内有较高水平的表达,且有证据证实 JNK 抑制因子 (JNK interacting protein-1, JIP-1) 或 JNK 活化抑制剂 CEP-1347/KT-7515 在动物模型中对多巴胺能神经元有神经保护作用,表明 MAPK 参与了 PD 的发病过程<sup>[19-21]</sup>。张丽娟等<sup>[22]</sup>发现 ERK/JNK 信号通路参与了大鼠心脏成纤维细胞增殖和胶原蛋白表达过程,即此通路与炎症发生有关。此外,有文献报道,IFN- $\gamma$  的活化与 MAPK 家族有一定的联系,如杨志波<sup>[23]</sup>等在对银屑病的研究中发现,IFN- $\gamma$  可能是通过蛋白酪氨酸激酶直接或间接促进 MAPK 活性增强,从而在银屑病角质形成细胞增殖过程中起到重要作用。Deng 等<sup>[24]</sup>人的研究表明,IFN- $\gamma$  可显著提高不同肿瘤细胞中 B7-DC 的表达水平,并伴随多种信号分子的磷酸化,当抑制 ERK/JNK 信号通路后,IFN- $\gamma$  诱导产生的 B7-DC 显著减少,信号分子的磷酸化也就被抑制,推测 ERK/JNK 通路在 IFN- $\gamma$  诱导肿瘤细胞 B7-DC 表达中发挥着不可替代的作用。

PD 是临床针灸治疗的优势病种,有较多研究均表明,电针能减少 PD 患者脑内多巴胺转运体的丢失,并改善其活性,从而延缓 PD 患者的病程<sup>[25]</sup>。多项临床 Meta 分析也显示电针治疗 PD 更安全、有效<sup>[26]</sup>。电针治疗可增加 PD 动物模型大脑黑质多巴胺能神经元的数量,提高纹状体内多巴胺能神经纤维的密度,显著降低黑质区细胞凋亡,并有保护多巴胺能神经元的作用<sup>[27]</sup>。李丽等<sup>[28]</sup>研究发现,电针与康复训练协同应用,可上调大鼠脑源性神经营养因子及其受体酪氨酸激酶 B 的含量,从而促进脊髓损伤大鼠的运动功能恢复。魏居瑞等<sup>[29]</sup>通过观察电针对脑缺血大鼠学习记忆功能和海马组织头蛋白表达的影响,发现电针可促进脑神经的自我修复,改善脑损伤。在本课题组的前期研究中,也发现脑源性神经营养因子及酪氨酸激酶

B 对多巴胺能神经元具有较强的营养和保护作用,对研究 PD 的进展具有深远影响<sup>[30]</sup>。

本实验结果显示,电针可以增加鱼藤酮诱导的 PD 模型大鼠脑部黑质内 TH 的含量,同时降低炎症因子 IFN- $\gamma$  的表达,这些变化可能与针刺调节 JNK 信号通路的表达水平有关,与本课题组前期研究结果基本吻合,即电针可能通过抑制 MAPK/JNK 信号通路的活性,从而在一定程度上控制炎症介质 IFN- $\gamma$  的表达水平,进而达到抑制炎症反应的作用,保护 PD 模型大鼠大脑功能<sup>[31]</sup>。在今后的研究中,应针对 MAPK 各个通路间的相互作用及其机制进行深入研究。

### 参 考 文 献

- [1] Savitt JM, Dawson VL, Dawson TM. Diagnosis and treatment of Parkinson's disease: molecules to medicine[J]. J Clin Invest, 2006, 116(7):1744-1754.
- [2] 王维治. 神经病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006:1095.
- [3] 刘莎莎,高维娟. c-Jun 氨基末端激酶在脑缺血再灌注损伤中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(3):607-610.
- [4] 张瑞萍,陈彪建. 神经炎症、小胶质细胞与帕金森病[J]. 神经损伤与功能重建, 2007, 2(6):15-19.
- [5] Phani S, Loike JD, Przedborski S. Neurodegeneration and inflammation in Parkinson's disease[J]. Parkinsonism Relat Disord, 2012, 18(1):207-209.
- [6] Betarbet R, Sherer TB, Mackenzie G, et al. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease[J]. Nat Neurosci, 2000, 20(3):1301-1306.
- [7] Sherer TB, Kim JH, Betarbet R, et al. Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and  $\alpha$ -Synuclein aggregation[J]. Exp Neurol, 2003, 179(1):9-16.
- [8] 冯媛,梁直厚,王涛,等. 鱼藤酮帕金森病大鼠模型建立的研究[J]. 卒中与神经疾病, 2004, 11(6):374-377.
- [9] 李云鹏,董兆君,王仕丽,等. 重复注射鱼藤酮对中枢多巴胺神经元的毒性作用[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(13):1123-1126.
- [10] Chen Y, Constantini S, Trembovler V, et al. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits[J]. J Neurotrauma, 1996, 13(10):557-568.
- [11] 华兴邦. 大白鼠穴位图谱的研究[J]. 实验动物与动物实验, 1991, 2(1):1.
- [12] Taylor TN, Greene JG, Miller GW. Behavioral phenotyping of mouse models of Parkinson's disease[J]. Behav Brain Res, 2010, 211(1):1-10.
- [13] 常宇涛,罗晓光,任艳. 鱼藤酮损伤大鼠黑质至行为学及黑质多巴胺能神经元损伤[J]. 解剖科学进展, 2011, 17(1):60-62.
- [14] Murphy LO, Blenis J. MAPK signal specificity: the right place at the right time[J]. Trends Biochem Sci, 2006, 31(5):268-275.
- [15] Qi M, Elion EA. MAP kinase pathways[J]. J Cell Sci, 2005, 118(16):3569-3572.
- [16] Firestein GS, Manning AM. Signal transduction and transcription factors in rheumatic disease[J]. Arthritis Rheum, 1999, 42(4):609-621.
- [17] 姚咏明,程明华,姚胜,等. 细胞外信号调节激酶抑制剂对烫伤脓毒症大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$  表达的影响及意义[J]. 中华外科杂志, 2004, 42(7):391-395.
- [18] Chung YC, Ko HW, Bok E, et al. The role of neuroinflammation on the pathogenesis of Parkinson's disease[J]. BMB Rep, 2010, 43(4):225-232.
- [19] Ferrer I, Blanco R, Carmona M, et al. Active, phosphorylation-dependent mitogen-activated protein kinase(MAPK/ERK), stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase(SAPK/JNK), and p38 kinase expression in Parkinson's disease and Dementia with Lewy bodies[J]. J Neural Transm, 2001, 108(12):1383-1396.
- [20] Saporito MS, Brown EM, Miller MS, et al. CEP-1347/KT-7515, an inhibitor of c-jun N-terminal kinase activation, attenuates the 1-methyl-4-phenyl tetrahydropyridine-mediated loss of nigrostriatal dopaminergic neurons in vivo[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1999, 288(2):421-427.
- [21] Xia XG, Harding T, Weller M, et al. Gene transfer of the JNK interacting protein-1 protects dopaminergic neurons in the MPTP model of Parkinson's disease[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(18):10433-10438.
- [22] 张丽娟,张晓明,马文东,等. ERK1/2 及 JNK 通路在 AcSDKP 抑制 PDGF 诱导的大鼠心脏成纤维细胞增殖和胶原蛋白表达中的作用[J]. 江苏医药, 2012, 38(7):752-755.
- [23] 杨志波,唐雪勇,向丽萍.  $\gamma$ -干扰素诱导银屑病皮损角质形成细胞 MAPK 活性的研究[J]. 中国中西医结合皮肤性病杂志, 2012, 11(1):14-16.
- [24] Deng J, Qian Y, Geng L, et al. Involvement of ERK and JNK pathways in IFN- $\gamma$ -induced B7-DC expression on tumor cells[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2011, 137(2):243-250.
- [25] 黄泳,姜雪梅. 头部电针对帕金森病患者脑多巴胺转运体的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(4):303.
- [26] 杨丽红,杜元灏,熊俊,等. 针灸治疗帕金森病疗效的系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2010, 10(6):711-717.
- [27] 马骏,梁少荣,王述菊,等. 电针对鱼藤酮诱导的帕金森病模型大鼠黑质 GDNF mRNA 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(20):3946-3948.
- [28] 李丽,周霞,杨军,等. 电针联合康复训练对脊髓损伤大鼠脑源性神经营养因子及其受体酪氨酸激酶 B 表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2011, 33(12):885-890.
- [29] 魏居瑞,刘喆,刘佩,等. 电针对慢性脑缺血大鼠学习记忆功能及海马组织头蛋白 mRNA 表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2014, 36(3):161-164.
- [30] 黄攀攀,马骏,王彦春,等. 针刺对帕金森病模型大鼠中脑黑质脑源性神经营养因子及其受体 TrkB 的影响[J]. 湖北中医学院学报, 2010, 12(2):3-4.
- [31] 王彦春,程宇核,马骏,等. 电针对帕金森病模型大鼠黑质 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  表达的影响[J]. 世界针灸杂志(英文版), 2011, 21(3):46-49.

(修回日期:2014-09-13)

(本文编辑:凌 琛)