

艾灸督脉经穴通过 p38 MAPK 通路抑制血管性痴呆大鼠 海马 CA1 区 IL-1 β 和 TNF- α 表达

刘芳¹, 李梦醒², 王玉³, 唐巍²

(1. 安庆医药高等专科学校医学院, 安徽 安庆 246052; 2. 安徽中医药大学针灸推拿学院, 安徽 合肥 230012;
3. 安庆师范大学体育学院, 安徽 安庆 246113)

[摘要]目的 基于 p38 MAPK 通路探究艾灸督脉“百会”“大椎”“风府”穴治疗血管性痴呆的作用机制。方法 将 60 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、艾灸组、阻滞剂组、艾灸+阻滞剂组。采用双侧颈总动脉永久结扎法复制血管性痴呆大鼠模型。采用 Morris 水迷宫实验检测大鼠认知功能, 透射电子显微镜观察海马神经细胞超微结构, Western blot 法和 RT-qPCR 法分别检测海马组织中 p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β) 蛋白及其 mRNA 表达水平。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠平均逃避潜伏期显著延长($P<0.05$), 穿越平台次数显著减少($P<0.05$); 海马 CA1 区神经细胞核染色质凝集、边集, 胞浆内细胞器数量明显减少, 胞浆基质完全溶解空泡化, 神经纤维变形、溶解、坏死; p38 MAPK、TNF- α 、IL-1 β 蛋白及 mRNA 表达水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较, 艾灸组、阻滞剂组平均逃避潜伏期显著缩短($P<0.05$), 穿越平台次数显著增加($P<0.05$); 海马 CA1 区神经细胞结构有不同程度改善; p38 MAPK、TNF- α 、IL-1 β 蛋白及 mRNA 表达水平均显著降低($P<0.05$)。艾灸+阻滞剂组与阻滞剂组上述指标差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 艾灸对血管性痴呆大鼠的认知功能障碍具有一定的改善作用, 其机制可能是通过调控 p38 MAPK 信号通路减少 TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达。
[关键词]血管性痴呆; 神经炎症; 艾灸; p38 MAPK
[中图分类号]R749.1⁺3; R245.8 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2023.03.012

血管性痴呆(vascular dementia, VD)是一种因脑组织缺血、出血、低灌注等因素引起的获得性脑损害综合征,严重影响患者的生活质量^[1]。脑组织缺血低氧时白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等促炎症因子通过改变血脑屏障的通透性,富集于病灶组织,导致脑组织损伤^[2]。而丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,

MAPK)级联反应几乎参与细胞的所有病理生理机制^[4]。p38 MAPK 作为 MAPK 家族的重要成员,可通过参与调控炎症因子的表达与释放发挥脑保护作用^[5]。研究^[6]证实,艾灸作为传统康复治疗手段,在改善 VD 患者认知功能障碍方面疗效确切。实验研究^[7-9]亦证实,艾灸具有改善脑血液循环、抗神经细胞凋亡、抑制炎症反应等作用。本团队前期研究^[10]发现,艾灸督脉组穴改善 VD 大鼠认知功能障碍的机制涉及神经再生抑制蛋白 Nogo 及其受体复合体。然而,其作用机制与调控 p38 MAPK 信号通路及抗海马神经细胞炎症反应的关系尚需深入研究。本研究拟以 p38 MAPK 信号通路为切入点,探讨艾灸治疗 VD 的作用机制,为艾灸治疗 VD 提供理论依据。

基金项目:安徽高校自然科学研究重点项目(KJ2019A1233, KJ2020A0377);安徽高校优秀青年人才支持项目(gxyqZD2022109)
作者简介:刘芳(1988-),女,硕士,讲师
通信作者:唐巍(1969-),女,博士,教授,博士研究生导师, tangwei2633@163.com

between bilateral M1 areas ($P<0.05$) and a significant reduction in the functional connectivity between bipsilateral SMA and contralateral PMC ($P<0.05$). After treatment, the sham acupoint group had significant increases in FMA lower limb motor function score and total FMA score ($P<0.05$) and a significant reduction in NIHSS score ($P<0.05$). **Conclusion** Hand and foot acupuncture with twelve needles may improve motor function and the degree of neurological deficit in ischemic stroke patients with hemiplegia by enhancing the functional connectivity between bilateral M1 areas and has acupoint specificity, and the change in the functional connectivity between SMA and PMC might be an other possible mechanism.
[Key words] Ischemic stroke; Hemiplegia; Motor cortex connectome; Functional magnetic resonance imaging; Hand and foot acupuncture with twelve needles

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠,体质量(300±20)g,由山东省实验动物中心[生产许可证号 SCXK(鲁)2019-0003]提供。剔除在 Morris 水迷宫实验中反应特别激烈或在水中漂浮不动的大鼠,选取 60 只在定位航行实验和空间探索实验中无差异的大鼠纳入实验组。将大鼠置于温度(24±2)℃、湿度 45%~55%的具有独立通风系统的笼中,每笼 4 只,适应性饲养 1 周,术前 12 h 禁食不禁水。实验操作严格遵循科技部《关于善待实验动物的指导性意见》的规定。

1.2 试剂和仪器 特制小艾条(0.4 cm×12 cm):湖南省岳阳市艾健堂生物科技有限公司;p38 MAPK 抑制剂 SB203580(批号 HY-10256A):美国 MedChem Express;抗 p38 MAPK(批号 217564):四川省成都正能生物科技有限公司;抗 IL-1β(批号 AF112018311)、抗 TNF-α(批号 AF102017703):美国 Affinity;羊抗兔 HRP 标记二抗(2015347):美国 SAB;BCA 蛋白定量试剂盒(批号 A53225)、PCR 试剂盒、RIPA 组织细胞快速裂解液(批号 89900):美国 Thermo;总 RNA 提取试剂(批号 10606ES60)、逆转录试剂盒(11119ES60):翌圣生物科技(上海)股份有限公司。

水迷宫(型号 WMT-200):四川省成都泰盟科技有限公司;电泳仪:美国 BIO-RAD(型号 mini protean 3 cell);电转仪(型号 PS-9):辽宁省大连竞迈科技有限公司;酶标检测仪(型号 SYNERGYH1):美国 BioTek;台式高速冷冻离心机(型号 5417R):德国 Eppendorf;切片机(型号 RM2016)、H-800 透射电子显微镜:德国莱卡;显微镜(型号 Nikon Eclipse C1):日本尼康;荧光定量 PCR 检测仪(7300):美国 ABI 公司;Image Pro Plus 图像处理系统(6.0 版):美国 Media Cybernetics。

2 方法

2.1 模型复制 按文献[11]方法复制 VD 模型。将大鼠置于温度(24±2)℃、湿度 45%~55%的实验室中适应性饲养 7 d,术前 12 h 禁食、不禁水,1%戊巴比妥钠氯化钠溶液(40 mg/kg)腹腔注射麻醉后,无菌操作,在颈部正中切一小口,钝性分离皮下组织,充分暴露双侧颈总动脉,用 4-0 号丝线分别在双侧颈总动脉的近心端与远心端作永久性结扎,然后清洗、缝合伤口,肌肉注射青霉素钠注射液。用电热毯保温,等大鼠苏醒后,将其放回笼中饲养。假手术组操作同模型组,但不结扎双侧颈总动脉。术后

常规护理 7 d,进行 Morris 水迷宫实验筛查,以假手术组大鼠隐匿平台逃避潜伏期的平均值作为参考值,计算其余组别大鼠隐匿平台逃避潜伏期的平均值和参考值之差与该大鼠隐匿平台逃避潜伏期平均值的比值,若该值>20%,即表明模型复制成功^[12]。

2.2 干预方法 ①艾灸组。依据《实验针灸学》^[13]动物穴位图谱,艾灸组取“百会”“大椎”“风府”。剃除穴位局部被毛后,置于自制木板高台(1.5 m×1.6 m×5 cm)上,点燃特制的艾条(0.4 cm×12 cm),于距离皮肤 3 cm 高度进行温和灸。艾灸过程中确保大鼠处于清醒状态,并随时根据大鼠避让情况调整悬灸距离。每穴每日艾灸 1 次,每次 20 min,每周连续干预 6 d 后休息 1 d,连续治疗 4 周。②阻滞剂组。按文献[14]方法腹腔注射 p38 MAPK 阻滞剂(SB203580 10 μmol/L),模型复制前 30 min 腹腔注射,此后隔日注射 1 次。③艾灸+阻滞剂组。同时接受艾灸治疗和 p38 MAPK 阻滞剂腹腔注射,方法与①②相同。④假手术组、模型组。与艾灸组、阻滞剂组一样进行抓取固定,但不给予任何治疗。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 Morris 水迷宫实验检测大鼠认知功能 在模型复制前后、4 周干预结束后分别进行 Morris 水迷宫实验。Morris 水迷宫正上方架设一台摄像机,摄像机连接电脑程序,按东(E)、南(S)、西(W)、北(N)方向将圆形水面均分为 4 个象限,在 E 象限正中放置一个直径 10 cm 的透明平台并没入水下 1 cm,实验时在水中滴入黑色墨水使水呈不透明色。实验前 5 d 为定位航行试验,每日将大鼠头朝下、面朝池壁分别从 E、S、W、N 象限的同一入水点放入水池,记录大鼠游泳情况,大鼠四肢完全站立平台的时间计为逃避潜伏期,每次限时 90 s。90 s 内如果大鼠未站立平台,实验员则诱导大鼠站立平台,逃避潜伏期计为 90 s。第 6 天为空间探索试验,撤除平台,记录大鼠在 90 s 内穿越原平台区域的次数。

2.3.2 透射电子显微镜观察缺血区神经细胞超微结构 治疗结束后,麻醉大鼠,断头取脑,快速冰上分离双侧海马 CA1 区,放入 3%戊二醛溶液中,4℃条件下固定 2 h。PBS 冲洗液冲洗 10 min,重复 3 次,50%、70%、90%丙酮逐级脱水 1 次,100%丙酮脱水 2 次,浸透,包埋、聚合放置变温烤箱中,半薄切片,超薄切片,柠檬酸铅、醋酸双氧铀染色,H800 透射电子显微镜下观察并摄片。

2.3.3 Western blot 法检测 IL-1β、TNF-α、p38

MAPK 蛋白相对表达水平 治疗结束后,断头处死大鼠,冰上取海马 CA1 区组织,加入裂解液,匀浆,裂解,取上清液,存于-80 ℃冰箱。按蛋白定量试剂盒的说明书进行蛋白定量。电泳、转膜(半干转膜法转膜,25 V,30 min),封闭,加一抗、二抗,孵育。洗膜,加 ECL 发光液,显影曝光。用 Image J 软件(8.0版)进行目标条带灰度值分析,以各目的条带蛋白与内参蛋白 β -actin 灰度值的比值作为其相对表达水平。

2. 3. 4 RT-qPCR 法检测 IL-1 β 、TNF- α 、p38 MAPK mRNA 相对表达水平 提取总 RNA 后进行反转录:37 ℃,60 min;85 ℃,5 min;4 ℃,5 min。将反转录出的 cDNA 保存于-80 ℃冰箱中备用。实时荧光定量 PCR 反应步骤:95 ℃预变性 1 min,95 ℃变性 20 s,60 ℃退火 60 s,40 个循环。以内参 β -actin 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法分析各目的基因相对表达水平。引物序列见表 1。

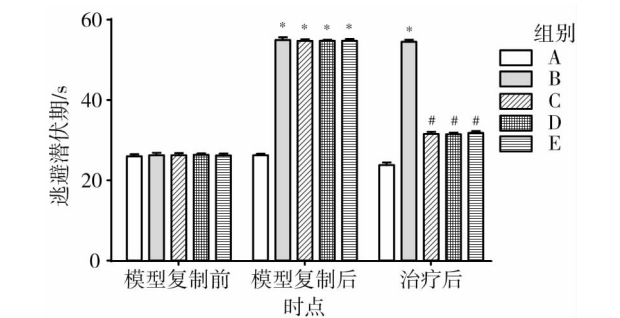
表 1 p38 MAPK、IL-1 β 、TNF- α mRNA 引物序列		
基因	引物序列(5'→3')	引物长度/bp
p38 MAPK	上游:TCGGCACACTGATGACGAAA	246
	下游:TCATGGCTTGGCATCCTGTT	
IL-1 β	上游:TTGAGTCTGCACAGTTCCCC	160
	下游:TCCTGGGGAAGGCATTAGGA	
TNF- α	上游:TTGAGTCTGCACAGTTCCCC	164
	下游:TCCTGGGGAAGGCATTAGGA	
GAPDH	上游:TATCGGACGCCTGGTTAC	140
	下游:CTGTGCCGTTGAACCTGC	

2. 4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料采用“均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)”表示。多组均数比较采用单因素方差分析,均数多重比较采用 LSD 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

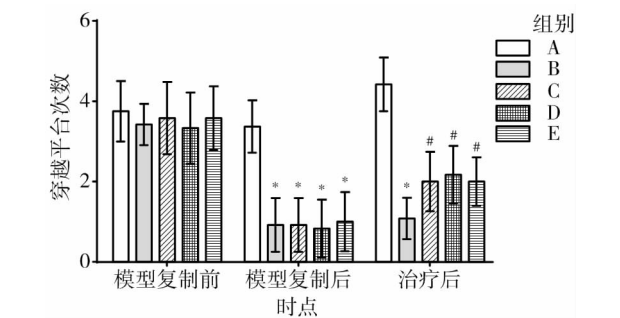
3.1 5 组大鼠 Morris 水迷宫平均逃避潜伏期比较 与假手术组比较,模型组大鼠平均逃避潜伏期显著延长($P<0.05$);与模型组比较,艾灸组、阻滞剂组大鼠平均逃避潜伏期均显著缩短($P<0.05$);艾灸+阻滞剂组与阻滞剂组大鼠平均逃避潜伏期比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 1。

3.2 5 组大鼠 Morris 水迷宫穿越平台次数比较 与假手术组比较,模型组大鼠穿越平台次数显著减少($P<0.05$);与模型组比较,艾灸组、阻滞剂组大鼠穿越平台次数显著增多($P<0.05$);艾灸+阻滞剂组与阻滞剂组大鼠穿越平台次数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 2。



注: A. 假手术组; B. 模型组; C. 艾灸组; D. 阻滞剂组; E. 艾灸+阻滞剂组;与假手术组比较, * $P<0.05$;与模型组比较, # $P<0.05$

图 1 5 组大鼠 Morris 水迷宫平均逃避潜伏期比较($\bar{x}\pm s, n=12$)



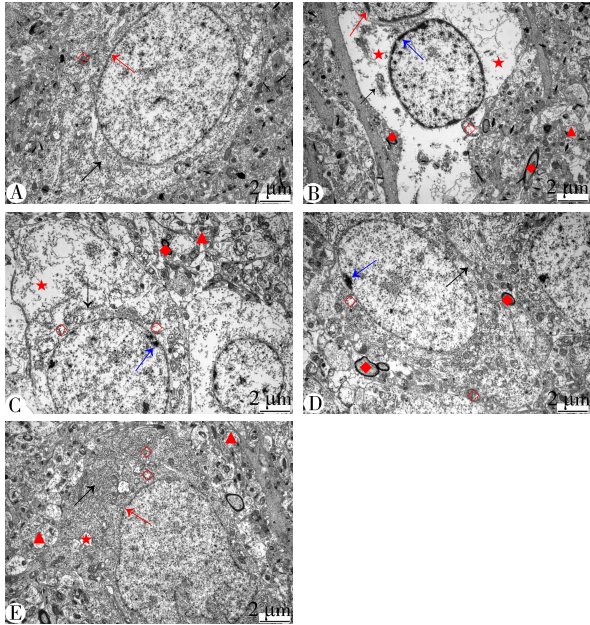
注: A. 假手术组; B. 模型组; C. 艾灸组; D. 阻滞剂组; E. 艾灸+阻滞剂组;与假手术组比较, * $P<0.05$;与模型组比较, # $P<0.05$

图 2 5 组大鼠 Morris 水迷宫穿越平台次数比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

3.3 5 组大鼠 CA1 区神经细胞超微结构比较 模型组大鼠 CA1 区神经细胞核染色体凝集、边集,核膜断续缺失,细胞器数量明显减少,细胞质完全溶解、空泡化,神经纤维结构松散,可见变形、坏死。艾灸组大鼠 CA1 区神经细胞核部分染色体轻微凝集,核膜较为完整,胞浆内细胞器数量减少,神经纤维结构较清晰。阻滞剂组大鼠 CA1 区神经细胞染色质轻微边集,核膜清晰完整,胞浆内可见线粒体、内质网等细胞器,胞浆基质有较小空泡存在。艾灸+阻滞剂组大鼠 CA1 区核膜清晰,染色轻微边集,胞浆内可见线粒体和粗面内质网等细胞器,胞浆基质有较小空泡,神经纤维坏死、溶解。见图 3。

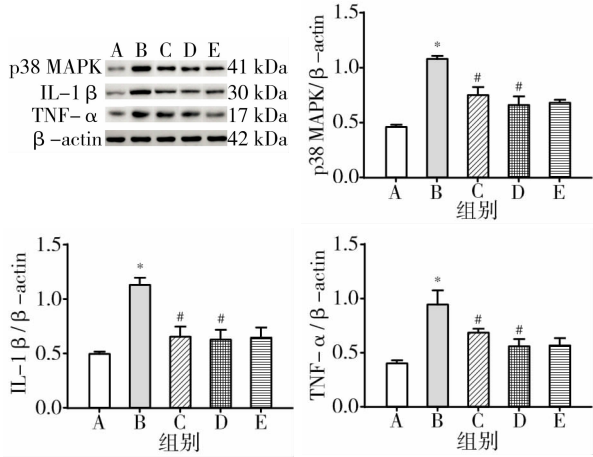
3.4 5 组大鼠 CA1 区 p38 MAPK、IL-1 β 、TNF- α 蛋白表达水平比较 与假手术组比较,模型组大鼠海马 CA1 区 p38 MAPK、IL-1 β 、TNF- α 蛋白表达水平平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,艾灸组、阻滞剂组 p38 MAPK、IL-1 β 、TNF- α 蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$);艾灸+阻滞剂组与阻滞剂组各蛋白相对表达水平比较,差异无统计学意义

($P>0.05$)。见图 4。



注：A. 假手术组；B. 模型组；C. 艾灸组；D. 阻滞剂组；E. 艾灸+阻滞剂组；红色箭头示核膜，蓝色箭头示染色体，黑色箭头示粗面内质网，红色“◇”示线粒体，红色“★”示胞浆基质溶解空泡化，红色“◆”示有髓神经纤维，红色“▲”示无髓神经纤维

图 3 5 组大鼠 CA1 区神经细胞超微结构比较(3%枸橼酸铅和 0.1%醋酸铀双重染色,×10 000 倍)

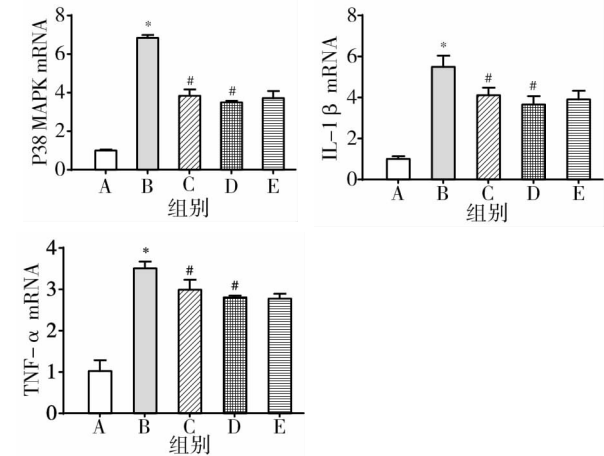


注：A. 假手术组；B. 模型组；C. 艾灸组；D. 阻滞剂组；E. 艾灸+阻滞剂组；与假手术组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$

图 4 5 组大鼠海马 CA1 区 p38 MAPK、IL-1β、TNF-α 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

3.5 5 组大鼠 CA1 区 p38 MAPK、IL-1β、TNF-α mRNA 表达水平比较 与假手术组比较，模型组大鼠海马 CA1 区 p38 MAPK、IL-1β、TNF-α mRNA 表达水平均显著升高($P<0.05$)；与模型组比较，艾灸组、阻滞剂组大鼠海马 CA1 区 p38 MAPK、IL-1β、

TNF-α mRNA 表达水平均显著降低($P<0.05$)；艾灸+阻滞剂组与阻滞剂组 p38 MAPK、IL-1β、TNF-α mRNA 表达水平比较，差异均无统计学意义($P>0.05$)。见图 5。



注：A. 假手术组；B. 模型组；C. 艾灸组；D. 阻滞剂组；E. 艾灸+阻滞剂组；与假手术组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$

图 5 5 组大鼠海马 CA1 区 p38 MAPK、IL-1β、TNF-α mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

4 讨论

VD 属于中医学“痴呆”范畴，其病位在脑，“督脉者，起于下极之输，并于脊里，上至风府，入属于脑”（《难经·二十八难》）。故而认为督脉是治疗 VD 的一条重要经络^[15]。早在《灵枢·邪气脏腑病形》中也有“病变在脑，首取督脉”的描述。百会、大椎、风府均为督脉要穴，百会为手三阳经与督脉之会，有通调阳气、开窍醒神之功。大椎为“诸阳之会”，具有通调头部气血之功。风府可醒脑调神。三穴合用有温补阳气、充养肾精、通络醒脑之功效。艾灸作为传统的中医治疗手段，长期应用于 VD 的治疗且取得良好的临床效应^[16]，本团队前期研究^[10]亦发现，艾灸督脉组穴对改善 VD 大鼠的认知功能障碍具有一定的作用。本实验结果显示，艾灸督脉经穴后 VD 大鼠学习、记忆能力提高，海马神经细胞超微结构明显改善，这与前期的文献研究结果^[8]基本一致。

MAPK 是重要的细胞内信号传递者，影响细胞的增殖、分化、转化、凋亡等生物学反应。p38 MAPK 是 MAPK 家族的重要成员，多种细胞外刺激(如应激反应、炎症因子)均可导致 p38 MAPK 磷酸化，激活 p38 MAPK 信号通路。研究^[17]发现，p38 MAPK 基因沉默能够阻断氯胺酮诱导的大鼠海马神经细胞凋亡。p38 MAPK 抑制剂能改善 2-VO 大鼠在磨牙缺失后的认知功能障碍和减少海

马神经细胞凋亡^[18]。这些数据说明,p38 MAPK 通路能够调控海马神经细胞状态,从而调控认知功能。本研究发现,模型组大鼠海马 CA1 区 p38 MAPK 表达水平明显升高,而艾灸刺激后,p38 MAPK 表达水平明显降低,提示艾灸对 VD 的治疗作用可能与 p38 MAPK 信号通路的抑制有关,这与吴洋洋等^[19]的研究结果相一致,即艾灸督脉能够抑制 p38 MAPK 信号通路的异常激活。同时,p38 MAPK 抑制剂也有明显的治疗效果,且在改善海马神经细胞超微结构方面,p38 MAPK 抑制剂的疗效优于艾灸,验证了 p38 MAPK 信号通路可能是 VD 认知功能障碍改善的重要环节。另外,艾灸+抑制剂组与抑制组的检测结果差异无统计学意义,说明艾灸可能无法通过其他途径改善 VD 的认知功能障碍,佐证艾灸可能通过抑制 p38 MAPK 信号通路而发挥作用。研究^[20]证实,神经炎症在神经变性中发挥重要作用,神经炎症是促进 VD 发病的重要机制。IL-1 β 是一种具有广泛生物活性的炎症因子,在空间识别和情境学习中起着重要作用,同时 IL-1 β 还可以通过促进神经营养因子的产生而提高记忆功能^[21]。TNF- α 主要是由单核细胞和巨噬细胞产生的单核因子,是免疫、炎症反应中重要的炎症递质,是精神疾病病理学中的恶化因素^[22]。研究^[22]显示,TNF- α 水平与认知之间存在密切的联系,VD 大鼠海马组织中 TNF- α 的水平较正常大鼠显著增高。故 IL-1 β 、TNF- α 的释放可介导脑缺血后海马组织的损伤,抑制 IL-1 β 、TNF- α 的释放可以改善脑缺血后海马组织损伤^[2]。张风云等^[23]研究发现,艾灸督脉能够抑制 TNF- α 、IL-1 β 的产生,改善大鼠认知功能。本实验结果显示,模型组 IL-1 β 、TNF- α 蛋白及 mRNA 表达水平较假手术组明显增高($P < 0.05$),提示模型组出现神经炎症反应。Liu 等^[24]发现,电针可抑制 p38 MAPK 介导的神经炎症,同时减少细胞因子 IL-1 β 和 TNF- α 的表达水平。艾灸刺激后,VD 模型大鼠海马组织中 p38 MAPK、IL-1 β 、TNF- α 蛋白及 mRNA 表达水平明显降低。这说明艾灸治疗 VD 可能通过抑制海马组织中 IL-1 β 、TNF- α 蛋白表达,缓解神经炎症,从而发挥其脑保护效应。

综上所述,艾灸能够改善 VD 模型大鼠认知功能障碍,其作用机制可能是通过调控 p38 MAPK 通路,抑制炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 释放,进而抑制海马神经炎症。本研究为艾灸改善 VD 大鼠认知功能障碍提供了实验依据。但神经炎症机制非常复杂,

艾灸治疗 VD 的机制仍需深入研究。

参考文献:

- [1] WANG H C,LIU N Y,WEI Y,et al. Efficacy and safety of Shenmayizhi Decoction as an adjuvant treatment for vascular dementia:study protocol for a randomized controlled trial[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98 (50): e18326.
- [2] 杨超,杨佳,刘玲. 涤痰汤对血管性痴呆大鼠海马 TNF- α 、NF- κ B、IL-1 β 、IL-10 表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(17): 3796.
- [3] YANG K,ZENG L,GE A,et al. A systematic review of the research progress of non-coding RNA in neuroinflammation and immune regulation in cerebral infarction/ischemia-reperfusion injury [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 930171.
- [4] MARTINEZ-LIMON A,JOAQUIN M,CABALLERO M,et al. The p38 pathway:from biology to cancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 1913.
- [5] 张奎明,葛鸾蝶,张林悦,等. 基于 p38MAPK 信号通路探讨中医药防治脑缺血再灌注损伤[J]. *广州中医药大学学报*, 2022, 39(6): 1417.
- [6] 闫红莉,朱才丰,吴生兵,等. 艾灸督脉组穴联合认知功能训练治疗脑卒中后认知障碍临床观察[J]. *安徽中医药大学学报*, 2022, 41(3): 46.
- [7] ZHU W L,YANG K,CAI S C,et al. Effect of warming Yang and supplementing kidney moxibustion therapy on the NF- κ B signaling pathway of vascular dementia rats [J]. *World Journal of Acupuncture-Moxibustion*, 2018, 28(1): 44.
- [8] 王婧吉,吴生兵,程红亮,等. 艾灸督脉组穴对血管性痴呆大鼠皮层和海马中晚期糖基化终产物受体和低密度脂蛋白受体相关蛋白-1 表达及神经元超微结构的影响[J]. *针刺研究*, 2020, 45(1): 33.
- [9] 杨坤,宋小鸽,阮静茹,等. 艾灸改善血管性痴呆大鼠认知功能及对海马神经元凋亡相关蛋白的影响[J]. *中国针灸*, 2021, 41(12): 1371.
- [10] 刘芳,李梦醒,刘启,等. 针灸督脉经穴对血管性痴呆大鼠神经再生抑制蛋白 Nogo 及其受体复合体影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(10): 45.
- [11] 谭洁,韩国栋,张泓,等. 改良大鼠双侧颈总动脉结扎方式建立血管性痴呆模型的评价研究[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(3): 264.
- [12] 张泓,黄桂兰,谭洁,等. 有氧运动对慢性缺血性认知障碍模型大鼠海马组织 pCREB、PICK1 及 GluR2 蛋白表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2018, 33(7): 777.
- [13] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 327.
- [14] 赵晓云,韩影,赵雅宁,等. 抑制丝裂原活化蛋白激酶磷

- 酸化对脑缺血后处理大鼠学习记忆及海马区神经细胞自噬的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2018, 27(6):487.
- [15] 余盼,唐纯志. 基于数据挖掘技术分析针灸治疗血管性认知障碍的选穴规律[J]. 广州中医药大学学报, 2021, 38(12):2694.
- [16] 程红亮,钱发才,胡培佳,等. 化瘀通络灸治疗血管性认知障碍的临床疗效观察[J]. 针刺研究, 2018, 43(8):526.
- [17] GUO X Q, CAO Y L, ZHAO L, et al. p38 mitogen-activated protein kinase gene silencing rescues rat hippocampal neurons from ketamine-induced apoptosis: an *in vitro* study[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(3):1401.
- [18] LU Y, PANG Q, WU Q, et al. Molar loss further exacerbates 2-VO-induced cognitive impairment associated with the activation of p38MAPK/NF κ B pathway[J]. Front Aging Neurosci, 2022, 14:930016.
- [19] 吴洋洋,朱才丰,宋小鸽,等. 基于 P38 MAPK 信号通路探讨艾灸督脉对 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠自噬水平的研究[J]. 针灸临床杂志, 2021, 37(11):50.
- [20] CHANG S R, LIU J G, LI H, et al. Pharmaceutical and pharmacological studies of Shen Ma Yi Zhi granule for prevention of vascular dementia: a review [J]. Front Neurosci, 2022, 16:1044572.
- [21] GUO B, CHEN C, YANG L, et al. Effects of dexmedetomidine on postoperative cognitive function of sleep deprivation rats based on changes in inflammatory response[J]. Bioengineered, 2021, 12(1):7920.
- [22] BELKHELFA M, BEDER N, MOUHOUB D, et al. The involvement of neuroinflammation and necroptosis in the hippocampus during vascular dementia [J]. J Neuroimmunol, 2018, 320:48.
- [23] 张风云,张庆萍,吴生兵,等. 化瘀通络灸对皮质下血管性痴呆大鼠额叶皮质下白质 TNF- α 、IL-1 β 表达的影响[J]. 云南中医学院学报, 2017, 40(1):5.
- [24] LIU W, WANG X, YANG S, et al. Electroacupuncture improves motor impairment via inhibition of microglia-mediated neuroinflammation in the sensorimotor cortex after ischemic stroke[J]. Life Sci, 2016, 151:313.

(收稿日期:2023-02-03)

Moxibustion at Acupoints on the Governor Vessel Inhibits the Expression of Interleukin-1 β and Tumor Necrosis Factor- α in the Hippocampal CA1 Region of Rats with Vascular Dementia via the p38 MAPK Pathway

LIU Fang¹, LI Mengxing², WAN Yu³, TANG Wei²

(1. School of Medicine, Anqing Medical and Pharmaceutical College, Anhui Anqing 246052, China; 2. College of Acupuncture and Moxibustion, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230012, China; 3. School of Physical Education, Anqing Normal University, Anhui Anqing 246113, China)

[Abstract] Objective To investigate the mechanism of action of moxibustion at Baihui, Dazhui, and Fengfu points of the governor vessel in the treatment of vascular dementia via the p38 MAPK pathway. **Methods** A total of 60 specific pathogen-free male Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham-operation group, model group, moxibustion group, blocker group, and moxibustion+blocker group. Permanent ligation of both common carotid arteries was performed to establish an animal model of vascular dementia. The Morris water maze test was used to measure cognitive function; transmission electron microscopy was used to observe the ultrastructure of hippocampal neural cells; Western blot and RT-qPCR were used to measure the protein and mRNA expression levels of mitogen-activated protein kinase (MAPK), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-1 β (IL-1 β) in hippocampal tissue. **Results** Compared with the sham-operation group, the model group had a significant increase in mean escape latency ($P<0.05$) and a significant reduction in the number of platform crossings ($P<0.05$), with chromosome condensation and margination in the nucleus of hippocampal CA1 neurons, a significant reduction in the number of organelles in cytoplasm, complete dissolution and vacuolization of cytoplasmic matrix, and deformity, dissolution, and necrosis of nerve fibers, as well as significant increases in the protein and mRNA expression levels of p38 MAPK, TNF- α , and IL-1 β ($P<0.05$). Compared with the model group, the moxibustion group and the blocker group had a significant reduction in mean escape latency ($P<0.05$), a significant increase in the number of platform crossings ($P<0.05$), varying degrees of improvement in the structure of hippocampal CA1 neurons, and significant reductions in the protein and mRNA expression levels of p38 MAPK, TNF- α , and IL-1 β ($P<0.05$). There were no significant differences in the above indicators between the moxibustion+blocker group and the blocker group ($P>0.05$). **Conclusion** Moxibustion has a certain effect in improving cognitive impairment in rats with vascular dementia, possibly by regulating the p38 MAPK signaling pathway and reducing the protein expression levels of TNF- α and IL-1 β .

[Key words] Vascular dementia; Neuroinflammation; Moxibustion; p38 MAPK