

研究针刺肝俞对大鼠原位肝移植急性排斥反应的影响*

丁利民¹ 邓丽珊^{2#} 卢泳¹

(1 江西省人民医院 南昌 330000; 2 江西省残疾文化体育管理中心 南昌 330000)

摘要:目的:探讨针刺肝俞对大鼠原位肝移植急性排斥反应的影响。方法:建立肝移植急性排斥模型,80 只模型大鼠按随机数字表法分为对照组(生理盐水组)、治疗 A 组(针刺肝俞组)、治疗 B 组(他克莫司组)、治疗 C 组(针刺肝俞+他克莫司组),每组 20 只。治疗 A 组针刺肝俞穴,1 次/d,每次 20 min;治疗 B 组给予他克莫司 0.05 mg/(kg·d)灌胃,1 次/d;治疗 C 组给予他克莫司和针刺肝俞。观察各组大鼠生存率及生存时间,术后第 7 天取腔静脉血检测肝功能各项指标[总胆红素(TBil)、结合胆红素(DBil)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)及谷氨酰转氨酶(GGT)]。结果:与对照组相比,治疗各组的大鼠术后存活时间明显延长,肝功能各项指标均明显下降($P<0.05$);与治疗 A 组比较,治疗 B 和治疗 C 组的大鼠术后存活时间明显延长,其肝功能指标也均显著下降($P<0.05$);与治疗 B 组比较,治疗 C 组的大鼠术后存活时间明显延长,其肝功能各项指标明显下降($P<0.05$)。结论:针刺肝俞能有效地减轻大鼠肝移植急性排斥反应,提高大鼠术后生存时间,其可应用于临床抗肝移植急性排斥反应治疗。

关键词:大鼠原位肝移植;针刺肝俞;急性排斥反应;生存率;肝功能

The Study of Impact of Acupuncture Ganshu Point on Acute Rejection after Orthotopic Liver Transplantation in Rats

DING Li-min¹, DENG Li-shan^{2#}, LU Yong¹

(1The people's hospital of Jiangxi province, Nanchang330000, 2The disabled culture sports management center in Jiangxi province, Nanchang330000)

Abstract: Objective: To explore the impact of acupuncture Ganshu point on acute rejection (AR) after orthotopic liver transplantation (OLT) in rats. Methods: The model of OLT with AR was established in 80 rats, these rats were divided into four groups by random number table: control group (normal saline group), acupuncture Ganshu point group (group A), tacrolimus group (group B), tacrolimus and acupuncture Ganshu group (group C), 20 in each group. Given acupuncture Ganshu in rats of group A, one time a day, 20 minutes each time; given tacrolimus intragastric administration of 0.05mg/ (kg·d) one time a day to rats of group B; given tacrolimus intragastric administration [0.05 mg/ (kg·d), one time a day] and acupuncture Ganshu (one time a day, 20 minutes each time) in rats of group C. Analysis the survival rate of four groups, vena cava blood was taken to measure the levels of TBil, DBil, AST, ALT, ALP, GGT on postoperative day 7. Results: Compared with the control group, the survival time of rats treated with each group was significantly prolonged, and the indexes of liver function were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with group A, the survival time of rats treated with B and C was significantly prolonged and the liver function index decreased significantly ($P<0.05$). Compared with the treatment group B, the survival time of rats in group C was significantly prolonged, and the indexes of liver function were significantly decreased ($P<0.05$). Conclusion: Acupuncture Ganshu point can alleviate the acute rejection of liver transplantation in rats definitely, it provides a new animal experimental basis for the treatment of acute rejection.

Key words: Orthotopic liver transplantation in rats; Acupuncture Ganshu; Acute rejection; Survival rate; Liver function

中图分类号:R332

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2018.01.001

肝脏移植是解决终末期肝功能衰竭的主要有效手段,1979 年环孢素 A 用于临床,使器官移植进入了一个新纪元。1987 年他克莫司问世,肝移植的生存率又进一步得到提高。然而移植引起的排斥反应仍然是肝移植失败的主要原因,肝脏移植的急性排斥反应(Acute Rejection, AR)是影响受者存活率的主要因素之一。在中医学,肝主疏泄、藏血,肝脏移植后排斥反应使肝失疏泄,致肝郁而血无所藏,进而引起体内热、毒、瘀、湿排泄异常。肝俞属足太阳膀胱经,为肝之背俞穴,功用疏肝利胆、理气明目。针刺肝俞可以起到疏肝解郁、和血藏血的效果,使机体达到阴阳平衡,故能缓解肝移植排斥反应。近年来

研究表明,针刺能调节机体的细胞与体液免疫功能^[1]。本文旨在探讨针刺肝俞能否影响大鼠肝移植急性排斥反应,为临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 80 只清洁级雄性 Wistar 大鼠和 80 只 SD 大鼠(南昌大学动物科学部提供),体质量 230~250 g,饲养温度 20℃,饲以颗粒饲料,自由饮水。华佗牌针无菌针灸针(苏州医疗用品厂有限公司),无菌手术器械(上海医疗器械有限公司手术器械厂),他克莫司注射液(国药准字 J20150100)。

1.2 实验方法 建立 Wistar-SD 大鼠原位肝移植急性排斥模型^[2]后再将 80 只大鼠随机分为对照组(生

* 基金项目:江西省卫计委中医药科研课题(编号:2015A029)

通讯作者:邓丽珊, E-mail: denglishen2007@163.com

理盐水组)、治疗 A 组(针刺肝俞组)、治疗 B 组(他克莫司组)、治疗 C 组(针刺肝俞+他克莫司组),每组 20 只。治疗 A 组针刺肝俞穴,1 次/d,每次 20 min;治疗 B 组给予他克莫司,0.05 mg/(kg·d)灌胃,1 次/d;治疗 C 组给予他克莫司[0.05 mg/(kg·d)灌胃,1 次/d]和针刺肝俞(1 次/d,每次 20 min)。大鼠肝俞穴位定位的方法参照实验针灸学之实验动物大白鼠实用腧穴简表(肝俞:第 9 胸椎下旁开 5 mm 之两旁肋间,直刺 6 mm)。

1.3 研究指标 (1)观察大鼠生存率及时间。(2)肝功能指标:肝移植术后第 7 天各组处死 10 只大鼠,采下腔静脉血应用全自动生化分析仪(雅培 C8000)测定 TBiL、DBiL、AST、ALT、ALP 以及 GGT。

1.4 统计学方法 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验,计数资料采取 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 四组生存率及生存时间比较 肝移植术后第 7 天各组处死 10 只大鼠,各组计算存活期的大鼠数量,分别是对照组 5 只、治疗 A 组 7 只、治疗 B 组 9 只、治疗 C 组 9 只,肝移植大鼠术后存活时间分别为对照组(7.6±1.14) d、治疗 A 组(14.4±2.07) d、治疗 B 组(20.1±2.26) d、治疗 C 组(29.8±2.49) d。其中治疗 A、B、C 组存活时间较对照组显著延长($P < 0.01$);而治疗 B 和 C 组大鼠的存活时间均长于治疗 A 组($P < 0.05$);治疗 C 组大鼠存活时间则长于 B 组($P < 0.05$)。

2.2 四组肝功能指标比较 与对照组相比,治疗各组的 TBiL、DBiL、AST、ALT、ALP 及 GGT 均显著下降($P < 0.05$);与治疗 A 组比较,治疗 B 和 C 组的肝功能指标也显著下降($P < 0.05$);与治疗 B 组比较,C 组的肝功能各项指标明显下降($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 四组肝移植术后第 7 天肝功能各项指标比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	TBiL (μmol/L)	DBiL (μmol/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	GGT (U/L)
对照组	10	120.40±55.42	98.30±34.19	1 112.20±162.14	1 002.40±155.31	150.32±54.32	108.48±16.32
治疗 A 组	10	105.39±48.38*	85.68±28.87*	742.47±129.56*	739.62±144.46*	108.34±49.37*	76.64±13.76*
治疗 B 组	10	98.51±41.12**	77.85±21.58**	459.65±87.13**	428.36±96.18**	95.32±40.14**	47.65±9.65**
治疗 C 组	10	77.56±28.85***	50.32±9.34***	243.80±75.43***	199.56±76.85***	70.76±25.31***	18.57±7.54***

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与治疗 A 组比较,** $P < 0.05$;与治疗 B 组比较,*** $P < 0.05$ 。

3 讨论

器官移植是治疗器官终末期病变的有效手段,但移植排斥反应仍然影响着器官移植的成功率^[3]。根据移植物排斥反应发生的时间,急性排斥反应可分为早期急性排斥反应(移植 3 个月内)和迟发型急性排斥反应(移植 3 个月后)。肝脏移植的急性排斥反应主要原因是受者 T 淋巴细胞识别移植肝的内抗原,产生针对移植肝组织的免疫炎症反应,最终破坏移植肝的功能。本文针对免疫反应,选择针刺具有调整阴阳、疏通经络功效的肝俞穴位,它可产生双向调节作用,疏通人体气流畅,改善肝组织血液循环,增强肝细胞的代谢,提高机体免疫调节的能力,其中包括清除自由基、稳定钙通道、抑制炎症反应、改善微循环障碍、抑制凋亡等。故针刺肝俞能调整脏腑功能,达到疏肝、益气、排毒等疗效,多靶点发挥作用。

目前器官移植术后广泛使用免疫抑制剂,虽然其预防和治疗移植排斥反应的效果良好,但其选择性和特异性较低,故使机体的免疫系统广泛受到抑制,常常导致患者免疫低下,甚至发生肿瘤以及造血功能及肝肾功能等损伤^[4],然而针刺调节机体免疫功能属于机体自身功能性调节,其中包括非特异性免疫应答和特异性免疫应答,以及细胞免疫、体液免

疫,且调节呈双向性,影响范围涉及到细胞水平至分子水平^[5-9],故可有效地避免免疫抑制剂导致的严重副作用^[10]。

本研究中单纯针刺肝俞穴位治疗 A 组肝移植术后的大鼠,其平均存活时间达(14.4±2.07) d,而对照组为(7.6±1.14) d,两组比较具有差异性, $P < 0.01$;且采用他克莫司与针刺肝俞穴位联合治疗的 C 组,其平均存活时间长达(29.8±2.49) d,明显延长了大鼠的存活时间,故针刺肝俞穴位可减轻他克莫司的副作用,并且能改善肝移植术后发生 AR 时肝功能各项指标(TBiL、DBiL、AST、ALT、ALP 及 GGT),进而延长术后大鼠的平均存活时间。有研究表明针刺肝俞具有明显的免疫调节作用,可以抑制免疫反应的发生和发展^[11]。

肝移植受者术后需终生服用免疫抑制剂,虽然其可获得较长的移植物存活时间,但其严重并发症和副作用仍然是难以解决的问题。中医除药物治疗外,针刺也是值得我们关注和发掘的治疗手段,本研究反映了穴位针刺治疗能够部分替代免疫抑制剂的使用,且可减轻免疫抑制剂使用产生的毒副作用。系统地探索传统中医药针刺治疗方法,如筛选合适穴位、多穴位联合刺激、刺激穴位的方法、刺激时间的长短、刺激强度的选择以及穴位刺(下转第 54 页)

个数均低于对照组, HDL-c 水平高于对照组, $P < 0.05$, 差异具有统计学意义。

表 2 两组治疗前后血脂各指标水平及脑微出血病灶个数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	n	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-c (mmol/L)	LDL-c (mmol/L)	脂蛋白 a (mg/L)	脑微出血病灶 (个)
观察组	治疗前	40	5.8± 1.0	2.9± 1.1	1.0± 0.5	3.9± 0.6	258.3± 26.0	8.5± 3.0
对照组	治疗前	40	5.9± 1.2	3.0± 1.3	1.0± 0.6	3.8± 0.4	258.0± 26.5	8.4± 3.2
观察组	治疗后	40	4.9± 0.4*	2.1± 0.3*	1.5± 0.3*	2.9± 0.3*	214.2± 23.6*	2.3± 2.2*
对照组	治疗后	40	5.3± 0.5	2.5± 0.4	1.1± 0.3	3.4± 0.4	243.5± 35.8	4.3± 2.1

注:与对照组治疗后比较, * $P < 0.05$ 。

2.3 两组不良反应发生情况比较 观察组出现胃肠道不适 2 例、乏力 1 例、肌肉疼痛 1 例、神经功能异常 1 例, 不良反应发生率为 12.5% (5/40); 对照组出现胃肠道不适 3 例、乏力 2 例、失眠 1 例、神经功能异常 1 例, 不良反应发生率为 17.5% (7/40), 组间差异无统计学意义, $P > 0.05$ 。

3 讨论

脑微出血属于脑实质的亚临床损害, 起病隐匿, 存在一定个体差异, 多见于初次脑卒中患者。研究显示^[4], 脑微出血在缺血性脑血管病及脑出血血管病中广泛存在, 当患者出现多发脑微出血时, 提示患者已为严重脑微血管病变, 大大增加了患者再次出血的危险性, 严重威胁患者生命安全。脑微出血的发病机制目前尚未明确, 临床普遍认为与血压、血脂以及脑血管粥样硬化等密切相关, 临床治疗主要以控制患者血栓形成为主要目的。阿托伐他汀为 HMG-CoA 还原酶抑制剂, 可通过阻断细胞内羟甲戊酸代谢途径, 抑制胆固醇合成, 调整脂蛋白水平, 降低血浆胆固醇, 阻止 LDL 生成, 从而降低血脂水平^[5]。同时可抑制血小板黏附聚集, 降低血管炎性反应, 稳定粥样硬化斑块, 改善血管内皮功能, 降低血管壁阻力, 保护局部缺血脑组织。此外, 阿托伐他汀还能够延长 LDL 氧化延迟时间, 抑制 SOD 的生成,

(上接第 2 页) 激结合中药治疗等都是值得深入研究和发掘的。进一步探讨刺激调节免疫的机制也是亟待解决的问题。此外, 多种因素影响穴位针刺产生的防卫免疫效应也有待于进一步研究^[12], 针刺穴位的特异性及配伍也需要全面更客观的阐述^[13]。本研究样本量偏少, 针刺治疗时间窗短, 影响有限, 应进一步增加样本量, 延长针刺治疗时间, 观察远期影响, 针刺肝俞能否在临床上应用还有待于更深入的研究。

参考文献

- [1] Sanchez-Fueyo A, Strom TB. Immunologic basis of graft rejection and tolerance following transplantation of liver or other solid organs [J]. Gastroenterology, 2011, 140(1): 51-64
- [2] 陈志红, 钱海鑫, 秦磊, 等. 大鼠原位肝移植急性排斥模型的建立 [J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(5): 667
- [3] Xin M, Cui S, Liu S, et al. Triptolide prolonged allogeneic islet graft survival in chemically induced and spontaneously diabetic mice without impairment of islet function [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis

减轻自由基损伤, 拮抗缺血再灌注损伤^[6]。

本研究结果显示, 观察组治疗总有效率明显高于对照组 ($P < 0.05$); 治疗前观察组血脂各指标及脑微出血病灶个数比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后观察组 TC、TG、LDL-c、脂蛋白 a 水平及脑微出血病灶个数均低于对照组, HDL-c 水平高于对照组 ($P < 0.05$); 两组不良反应发生率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明阿托伐他汀钙片治疗脑卒中并脑微出血, 可有效调节患者血脂水平, 减少脑微出血程度, 安全有效, 值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 尚进, 杨杰. 阿托伐他汀钙片治疗脑卒中并脑微出血的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(3): 195-198
- [2] 王娟. 阿托伐他汀钙联合清脑通络方对缺血性脑血管病脑微出血患者血脂水平的影响 [J]. 临床心身疾病杂志, 2017, 23(4): 15-17
- [3] 靳丽丽, 朱善贤, 韩雪娟, 等. 阿托伐他汀钙片治疗急性缺血性脑卒中的临床疗效观察 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25(1): 117-120
- [4] 尹华. 瑞舒伐他汀与阿托伐他汀治疗急性脑梗死脑微出血的疗效及对生化指标的影响比较 [J]. 中国药业, 2017, 26(15): 51-53
- [5] 钟静玫, 武绍远, 陈辉, 等. 阿托伐他汀降脂治疗对脑微出血的影响 [J]. 临床神经病学杂志, 2012, 25(3): 220-221
- [6] 陈健龙, 于涛. 阿司匹林与氯吡格雷联合阿托伐他汀钙治疗急性缺血性脑血管病患者的疗效比较 [J]. 中国生化药物杂志, 2017, 37(1): 157-159

(收稿日期: 2017-12-02)

Int, 2010, 9(3): 312

- [4] 李丽娜, 焦志华, 宗蕾. 针灸调节免疫功能的研究进展 [J]. 中国医药导刊, 2014, 16(4): 633-634
- [5] 于茜楠, 陈以国. 针灸对固有免疫双向调节研究简况 [J]. 实用中医内科杂志, 2015, 29(3): 137-139
- [6] 邱启祥, 黄诚. 针灸与免疫调节 [J]. 赣南医学院学报, 2012, 32(3): 476-480
- [7] 沈文宾, 周次利, 吴焕淦, 等. 针灸调节免疫衰老及其表观遗传机制 [J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(11): 1782-1787
- [8] 李洁, 崔建美, 包巨大, 等. 针灸效应与现代免疫的关系探讨 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(8): 2058-2059
- [9] 宁方力. 浅谈针灸对于免疫功能调节的作用 [J]. 中国保健营养, 2016, 26(13): 418-419
- [10] Metalidis C, Kuypers D. Immunosuppressive therapy after kidney transplantation: current and new strategies [J]. Minerva Urol Nefrol. 2011, 63(1): 1-19
- [11] 李双艳, 阳仁达, 谭静, 等. 近几年针灸对免疫功能影响的研究进展 [J]. 中医临床研究, 2012, 4(5): 118-120
- [12] 于浩. 针灸对运动应激大鼠免疫机能的调节作用研究 [J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(16): 107
- [13] 黄诚, 张志花, 韩立民. 传统医学对针灸、穴位与免疫关系的认识 [J]. 赣南医学院学报, 2013, 33(1): 141-143

(收稿日期: 2017-09-15)