

针刺夹脊穴对衰老模型大鼠骨骼肌 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路的影响*

杨正瑜¹ 陈 群² 金 京¹ 陈柏瑞¹ 王 宇¹ 朱浩铭¹ 刘海潮¹ 林建平³ 陈少清^{1,4}

摘要

目的:观察针刺夹脊穴对衰老大鼠骨骼肌 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路的影响,探讨针刺延缓腰部骨骼肌衰老性骨骼肌萎缩的可能机制。

方法:40只SD雄性大鼠随机分为空白组、模型组、针刺组、非穴组。空白组大鼠每日项背部皮下注射生理盐水,其余3组大鼠每日项背部皮下注射 D-gal,每日1次,连续12周,自第9周起进行针刺干预。针刺组取双侧L3—L5夹脊穴,非穴组取大鼠双侧非经非穴,每日1次,持续4周。测量各组大鼠体重及终末体质量增长率,采用抓力测试检测大鼠肌力,HE染色观察大鼠腰部骨骼肌萎缩情况,生化检测大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)含量,实时荧光定量PCR检测单磷酸腺苷活化蛋白激酶 α (AMPK α)、沉默信息调节因子1(SIRT1)、过氧化物酶增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (PGC-1 α)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子1A(P21)、肿瘤抑制蛋白53(P53)mRNA的相对表达量。

结果:同空白组相比,模型组、针刺组、非穴组大鼠体质量减轻($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$),终末体重增长率差异有显著性($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$)。干预前,与空白组相比,模型组、针刺组、非穴组大鼠抓力均下降($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$),而3组大鼠之间的抓力无差异($P > 0.05$)。干预后,模型组大鼠抓力明显低于空白组($P < 0.001$),腰部骨骼肌细胞出现萎缩,具体表现在骨骼肌纤维面积和纤维直径下降($P < 0.001$, $P < 0.01$),大鼠血清中SOD、GSH-PX的活力下降($P < 0.001$, $P < 0.001$),MDA含量显著升高($P < 0.01$),腰部骨骼肌组织中AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α mRNA表达显著降低($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.01$),P21、P53 mRNA相对表达量比空白组高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组相比,针刺组大鼠抓力升高($P < 0.001$),大鼠腰部骨骼肌萎缩程度较模型组大鼠有所改善,骨骼肌纤维面积和直径增加($P < 0.01$, $P < 0.05$),针刺夹脊穴上调了大鼠血清中SOD活力、GSH-PX活力($P < 0.001$, $P < 0.01$),抑制了血清中MDA的表达($P < 0.05$),AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α mRNA的表达量升高($P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$),P21、P53 mRNA相对表达量下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),而非穴组大鼠未见显著差异($P > 0.05$)。

结论:针刺夹脊穴可使衰老模型大鼠腰部骨骼肌萎缩情况有所缓解,提高了衰老大鼠肌力,抑制氧化应激反应,这可能是通过AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路发挥作用。

关键词 衰老性骨骼肌萎缩;针刺;夹脊穴;单磷酸腺苷活化蛋白激酶/沉默信息调节因子1/过氧化物酶增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α 信号通路

中图分类号:R245,R685 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2026)-07-1019-09

Effects of acupuncture on the AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway in skeletal muscle of aging rats/
YANG Zhengyu, CHEN Qun, JIN Jing, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2026, 41(7):
1019—1027

Abstract

Objective: To observe the effect of acupuncture on the AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway in skeletal

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2026.07.002

*基金项目:国家自然科学基金项目(81973924);福建中医药大学针灸学科开放课题(XZJ2022003)

1 福建中医药大学康复医学院,福建省福州市,350122; 2 福建中医药大学成人教育学院; 3 福建医科大学健康学院; 4 通讯作者
第一作者简介:杨正瑜,女,硕士研究生; 收稿日期:2024-05-06

muscle of aging rats, and to explore the possible mechanism of acupuncture in delaying aging skeletal muscle atrophy in lumbar skeletal muscle.

Method: Forty male SD rats were randomly divided into blank group, model group, acupuncture group and non-acupoint group. The blank group received daily subcutaneous injections of normal saline in the dorsal neck region. The other three groups received daily subcutaneous injections of D-galactose (D-gal) in the same region for 12 weeks to induce aging. Starting from week 9, acupuncture intervention was performed for 4 weeks. The acupuncture group took bilateral L3—L5 Jiaji points, and the non-acupoint group took bilateral non-meridian and non-acupoint points. Body weight and growth rates were measured, and muscle strength was evaluated using a grip strength test. Lumbar skeletal muscle atrophy was assessed using hematoxylin and eosin staining. Serum levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), and glutathione peroxidase (GSH-PX) were analyzed biochemically. Relative expression levels of AMPK α , SIRT1, PGC-1 α , P21 and P53 mRNA were detected by real-time quantitative PCR.

Result: Compared with the blank group, the body weight of the model group, the acupuncture group and the non-acupoint group was reduced ($P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.01$), and the difference in terminal body weight growth rate was significant ($P<0.001$ for all). Before intervention, grip strength was significantly reduced in all experimental groups compared to the blank group ($P<0.01$ for all), with no significant differences among the experimental groups ($P>0.05$). After the intervention, the model group showed significantly lower grip strength compared to the blank group ($P<0.001$), accompanied by evident lumbar skeletal muscle atrophy, as reflected by reduced muscle fiber area and diameter ($P<0.001$, $P<0.01$). Additionally, serum SOD and GSH-PX activities decreased ($P<0.001$, $P<0.001$), while MDA increased significantly ($P<0.01$). The mRNA expression levels of AMPK α , SIRT1, and PGC-1 α decreased significantly ($P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.01$), while the relative mRNA expression levels of P21 and P53 were higher than those in the blank group ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, the acupuncture group demonstrated increased grip strength ($P<0.001$), improved skeletal muscle fiber area and diameter ($P<0.01$, $P<0.05$), enhanced serum SOD and GSH-PX activities ($P<0.001$, $P<0.01$), reduced serum MDA levels ($P<0.05$), and elevated AMPK α , SIRT1, and PGC-1 α mRNA expression ($P<0.001$, $P<0.01$, $P<0.05$). Moreover, P21 and P53 mRNA expression levels were significantly reduced in the acupuncture group ($P<0.05$, $P<0.01$), while there was no significant difference in the non-acupoint group ($P>0.05$).

Conclusion: Acupuncture at Jiaji points alleviated the atrophy of lumbar skeletal muscles, improved muscle strength and inhibited oxidative stress in aging rats. These effects may be mediated through the AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway.

Author's address Rehabilitation School of Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350122

Key word age-related sarcopenia; acupuncture; Jiaji acupoint; AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway

衰老造成机体多器官系统功能下降,是许多退行性疾病病因的核心^[1]。随着人口老龄化问题的加剧,人们对如何延缓衰老的方法日益关注,对于衰老的研究已成为当前的一大热点。

衰老的过程可以定义为活性氧(reactive species oxygen, ROS)水平的增加^[2]。在人体组织结构中骨骼肌是最早受到衰老影响的组织之一。氧化应激与骨骼肌萎缩密切相关^[3]。在肌肉纤维中,活性氧的增加会促进骨骼肌的蛋白水解,肌肉中蛋白质

的合成减少,导致骨骼肌蛋白质代谢失衡,进而引发骨骼肌的功能下降和肌肉萎缩^[4]。衰老性骨骼肌萎缩与老年腰痛密切相关^[5]。腰痛作为临床常见疾病,影响了躯体的运动功能,使得人日常行为活动受到限制,严重威胁到老年人的生活质量,对家庭和社会造成负担。

针刺疗法是祖国医学的重要组成部分,能够疏通经络,调和气血,对慢性骨骼肌肉疼痛疾病的疗效显著^[6]。研究表明,针刺可以治疗骨骼肌衰老,但目

前关于针刺治疗衰老性骨骼肌萎缩的作用机制研究仍较少^[7]。夹脊穴作为临床常用治疗腰痛腧穴,位于背部竖脊肌内侧,深部既有稳定脊柱的核心肌群,又有丰富的血管、神经,从经络理论上来说,与督脉、足太阳膀胱经的经气相通,因此,刺激该穴位可以改善腰部功能^[8-10]。

作为能量传感网络的单磷酸腺苷活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)/沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)/过氧化物酶增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (peroxidase proliferator-activated receptor gamma coactivator1 α , PGC-1 α)信号通路,可以通过感应机体内能量变化和氧化应激状态,从而参与调控线粒体生物合成、能量代谢和氧化应激过程^[11-12]。近年研究发现,AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路可以改善骨骼肌萎缩^[13]。

本研究以亚急性衰老模型大鼠为研究对象,探讨针刺夹脊穴是否通过AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路,抑制氧化应激,从而延缓骨骼肌衰老与促进骨骼肌修复。

1 材料与方法

1.1 实验动物

40只SPF级健康雄性8周龄SD大鼠,由福建中医药大学实验动物中心提供,实验动物许可证号SCXK(闽)2019—0007。所有动物于福建中医药大学实验动物中心进行饲养,大鼠自由进食及饮水。实验动物在实验开始前适应性饲养1周。此次实验获得福建中医药大学动物伦理委员会批准,伦理批号:FJTCMIACUC 2022042。

1.2 主要试剂及仪器

D-gal(S11050,上海源叶生物科技有限公司)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测试盒(A001-3,南京建成)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)测试盒(A003-1,南京建成)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)测试盒(A005-1,南京建成)、HE试剂盒(G1003,武汉索莱宝公司)、PCR反转录试剂(R223,南京诺唯赞)、QP-PCR试剂(Q711,南京诺唯赞),引物交由福州亚尚生物工程公司负责设计与合成引物。

酶标检测仪[帝肯(上海)贸易有限公司],大小鼠抓力测定仪(XR-YLS-13A,上海欣软),一次性无菌针灸针(型号0.25mm $\times$ 25mm,苏州医疗用品厂有限公司),实时荧光定量PCR仪(Bio-Rad,美国)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组及造模方法:适应性喂养1周后,采用随机数字表法将40只雄性大鼠分为空白组($n=10$)、模型组($n=10$)、针刺组($n=10$)、非穴组($n=10$)。根据以往文献^[14],空白组每日项背部皮下注射0.9%的生理盐水(300mg/kg/d),其余各组大鼠每日项背部均给予相同剂量D-gal(300mg/kg/d)皮下注射,连续12周。

1.3.2 干预方法:针刺组大鼠以俯卧位固定在自制的束缚装置中,充分暴露大鼠的腰背部,并剔除该部位毛发,穴位参照《实验针灸学》^[15]选取双侧L3—L5夹脊穴,脊柱旁约0.3cm处,以0.25mm $\times$ 25mm毫针直刺,针刺深度均取约2.5mm,每侧3针,共6针,每次留针30min,留针期间约10min行针1次,1次/天,6次/周,共治疗4周。非穴组依据文献选取双侧“非穴位”(L3—L5夹脊穴向外约0.5cm处)^[16],其余操作同针刺组。

1.3.3 标本采集及样本制备:干预结束后,所有大鼠禁食禁水12h,称重后以2%戊巴比妥钠40mg/kg的计量腹腔注射并麻醉大鼠。剪除背部皮毛,取腰段骨骼肌,骨骼肌于干冰中冷冻后在-80℃冰箱保存;另一侧在4%多聚甲醛中固定,脱水后进行石蜡包埋,用于苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色。在腰部取骨骼肌后,于腹主动脉采血,静置2h后离心取上清(4℃,3500r/min,离心15min),用于生化检测。

1.4 主要观察指标

1.4.1 大鼠体质量增长及终末体质量增长率:造模开始后每个实验周对各组大鼠进行称重并记录数值。终末体质量增长率=(终末体质量-初始体质量)/终末体质量。

1.4.2 抓力测试:在干预前后使用大小鼠抓力测定仪对大鼠抓力进行检测。大小鼠抓力测定仪水平放置,连接好仪器后,将大鼠放置于抓力板上,测试前让大鼠在抓力板上适应1min,然后抓住大鼠尾巴,确定大鼠抓牢后,平稳地向后拉,直至大鼠不再抓握住抓力板,此时记录下仪器上的最大抓力读数。测

定3次并记录数值,用3次抓力的平均值作为反映四肢肌肉力量的指标。

1.4.3 HE染色:将固定后的肌肉组织进行脱水包埋并切片,石蜡切片经过梯度脱蜡到水后进行苏木精染色、分化液分化、伊红染色,并用中性树胶封片,在显微镜下对大鼠肌肉组织形态进行观察。采用Image J软件计算肌纤维横截面积和肌纤维直径。

1.4.4 生化检测大鼠血清中SOD、MDA、GSH-PX含量:按照试剂盒说明书进行实验操作,用酶标仪检测吸光度后代入公式计算。

1.4.5 实时荧光定量PCR检测 AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α 、P21、P53 mRNA的表达:取-80℃冻存的大鼠腰部骨骼肌组织50—100mg,采用Trizol法提取总RNA后设定反转条件,反转录为cDNA;荧光定量PCR仪进行基因表达量的检测,2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法对Real-time PCR结果进行定量分析。反转录条件:42℃,2min;50℃,15min;85℃,5s。扩增条件:预变性95℃,30s。扩增反应:95℃,5s,60℃,30s,共40个循环。引物序列见表1。

1.5 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行数据统计分析,所有数据符合正态分布的,以均数 $\pm$ 标准差表示。采用单因素方差分析,满足方差齐性时组间两两比较采用LSD检验,方差不齐时采用Dunnett's T3检验, $P<0.05$ 为差异具有显著性。采用GraphPad Prism 8.0.3作图。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量增长及终末体质量增长率

表1 PCR引物序列及扩增长度		
基因	引物序列 (5'-3')	碱基数 (bp)
AMPK α	F:GTTGGACTATGAATGGAAGGTTGT	24
	R:CCGATCTCTGTGGAGTAGCA	20
SIRT1	F:GACGCCTTATCCTCTAGTTCCT	22
	R:CAGCATCATCTTCCAAGCCATT	22
PGC-1 α	F:CGCTGCTCTTGAGAATGGATAT	22
	R:GTCATACTTGCCTTGGTGGAA	22
P21	F:TTGTCGCTGTCTTGCACTCT	20
	R:CTTGCAAGACCAATCGGC	20
P53	F:ITTCGAGATGTTCCGAGAGCTG	21
	R:GTAGACTGGCCCTTCTTGTC	21
GAPDH	F:ACGGCAAGTTCAACGGCACAG	21
	R:GAAGACGCCAGTAGACTCCACGAC	24

模型组、针刺组、非穴组大鼠的体质量增长速度较空白组缓慢,且皮下注射D-gal的三组大鼠与空白组相比,体质量减轻($P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.001$),终末体质量增长率差异具有显著性($P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.001$),而注射D-gal的各组大鼠体重终末增长率组间无差异($P>0.05$)。表明皮下注射D-gal能够在一定程度上抑制SD大鼠体重的增长速率。结果见表2。

表2 各组大鼠体质量增长和终末体质量增长率比较
($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数 (只)	初始体质量 (g)	终末体质量 (g)	终末体质量 增长率(%)
空白组	10	395.70 $\pm$ 37.59	612.00 $\pm$ 61.17	35.31 $\pm$ 1.38
模型组	10	383.80 $\pm$ 12.36	538.40 $\pm$ 38.91 ^②	28.47 $\pm$ 4.20 ^③
针刺组	10	391.70 $\pm$ 16.81	566.90 $\pm$ 27.82 ^①	30.86 $\pm$ 2.15 ^③
非穴组	10	385.20 $\pm$ 32.43	551.90 $\pm$ 59.39 ^②	30.04 $\pm$ 2.17 ^③

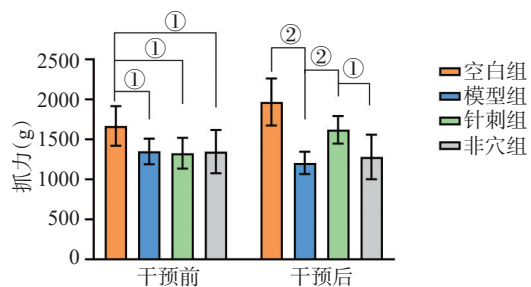
注:与空白组比较,① $P<0.05$,② $P<0.01$,③ $P<0.001$ 。

2.2 各组大鼠抓力测试

各组大鼠抓力变化:干预前,与空白组大鼠相比,模型组、针刺组、非穴组的大鼠抓力均下降($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.01$)。同时,比较模型组、针刺组、非穴组三组大鼠之间的抓力,无显著性差异。干预4周后,与空白组相比,模型组大鼠抓力下降($P<0.001$)。与模型组相比,针刺组大鼠抓力升高($P<0.001$)。与针刺组相比,非穴组大鼠抓力下降($P<0.01$)。非穴组大鼠抓力与模型组差异无显著性($P>0.05$)。见图1。

2.3 针刺对大鼠腰部骨骼肌组织形态的影响

HE染色结果显示各组大鼠腰部骨骼肌萎缩程度如下(见图2):空白组大鼠腰部骨骼肌的肌纤维细胞聚集而形成肌束,各个肌细胞呈现多边形,肌细胞之间紧密连接,肌间隙小,且各细胞核大部分位于肌细胞边缘,符合正常骨骼肌的形态学特征。与空白组相比,模型组大鼠腰部骨骼肌细胞出现圆形化,且大小不一,排列较松散,肌间隙较空白组骨骼肌的肌间隙增大,出现了不同程度的萎缩情况,骨骼肌纤维面积和直径减少($P<0.001$, $P<0.01$)。与模型组相比,针刺组大鼠腰部骨骼肌萎缩程度有所改善,肌细胞排列相对更为紧密,纤维面积、直径增加($P<0.01$, $P<0.05$),细胞圆形化程度下降,肌间隙减小,肌细胞排列也较为整齐。与针刺组相比,非穴组大

图1 各组大鼠四肢抓力检测 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

注:① $P < 0.01$, ② $P < 0.001$ 。

鼠腰部骨骼肌纤维面积减少($P < 0.01$),纤维直径下降($P < 0.05$)。非穴组大鼠和模型组相比,腰部骨骼肌萎缩程度没有明显改善($P > 0.05$)。

2.4 各组大鼠血清SOD活力、MDA含量、GSH-PX活力的表达

与空白组比较,模型组大鼠血清中SOD、GSH-PX活力显著降低($P < 0.001, P < 0.001$),MDA含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,针刺组大鼠血清中SOD活力、GSH-PX活力显著升高($P < 0.001, P < 0.01$),MDA含量下降($P < 0.05$);与针刺组比

较,非穴组大鼠血清中SOD活力、GSH-PX活力下降($P < 0.001, P < 0.01$),MDA含量上升($P < 0.01$)。与模型组相比,非穴组SOD活力、MDA含量、GSH-PX活力变化差异无显著性($P > 0.05$)。见图3。

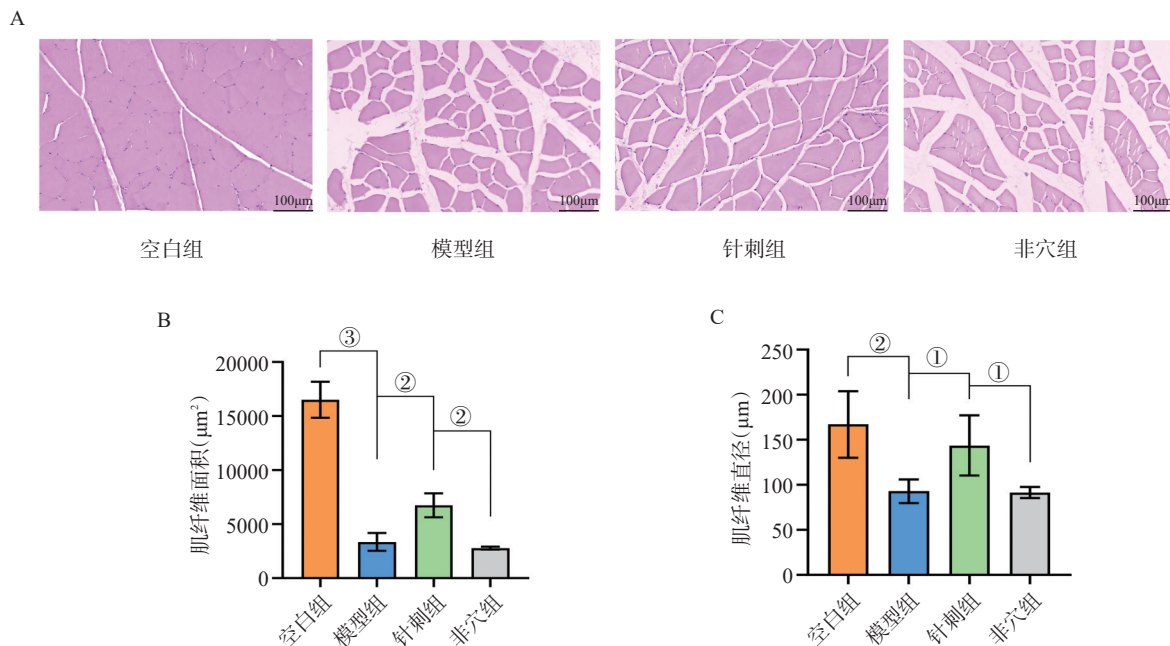
2.5 各组大鼠腰部骨骼肌中AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α 、P21、P53 mRNA的相对表达

模型组大鼠腰部骨骼肌组织中AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α mRNA相对表达量显著低于空白组($P < 0.001, P < 0.001, P < 0.01$),P21、P53 mRNA相对表达量比空白组高($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组比较,针刺组大鼠腰部骨骼肌组织中AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α 表达显著升高($P < 0.001, P < 0.01, P < 0.05$),P21、P53 mRNA相对表达量下降($P < 0.05, P < 0.01$)。非穴组与模型组相比,AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α 、P21、P53 mRNA的相对表达量没有显著性差异($P > 0.05$)。见图4。

3 讨论

随着时间的推移,机体的功能、适应能力和抵抗力出现下降的迹象,这主要是由氧化应激损伤的累

图2 各组大鼠骨骼肌形态学表现



注:(A)各组大鼠骨骼肌纤维HE染色图,200 $\times$;(B)各组大鼠骨骼肌纤维面积统计图($\bar{x} \pm s, n=3$);(C)各组大鼠骨骼肌纤维平均直径统计图($\bar{x} \pm s, n=3$)。① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, ③ $P < 0.001$ 。

积所致^[17]。当机体处于衰老状态时,体内的超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶含量显著下降,丙二醛含量升高^[18]。本研究通过皮下注射 D-gal 建立大鼠衰老模型。D-gal 能够产生活性氧,诱导机体产生氧化应激损伤,是目前较为理想的构建衰老模型

方法^[19-20]。P21、P53 是衰老相关基因,通过激活 P53-P21-依赖的 DNA 损伤反应可以有效地降低细胞的增殖能力,并促进细胞衰老进程^[21]。D-gal 诱导的衰老模型可见衰老相关基因包括 P21 和 P53 的表达上调^[21]。体重在动物实验过程中能够反映出动物

图3 各组大鼠SOD、MDA以及GSH-PX的表达量 (x±s,n=4)

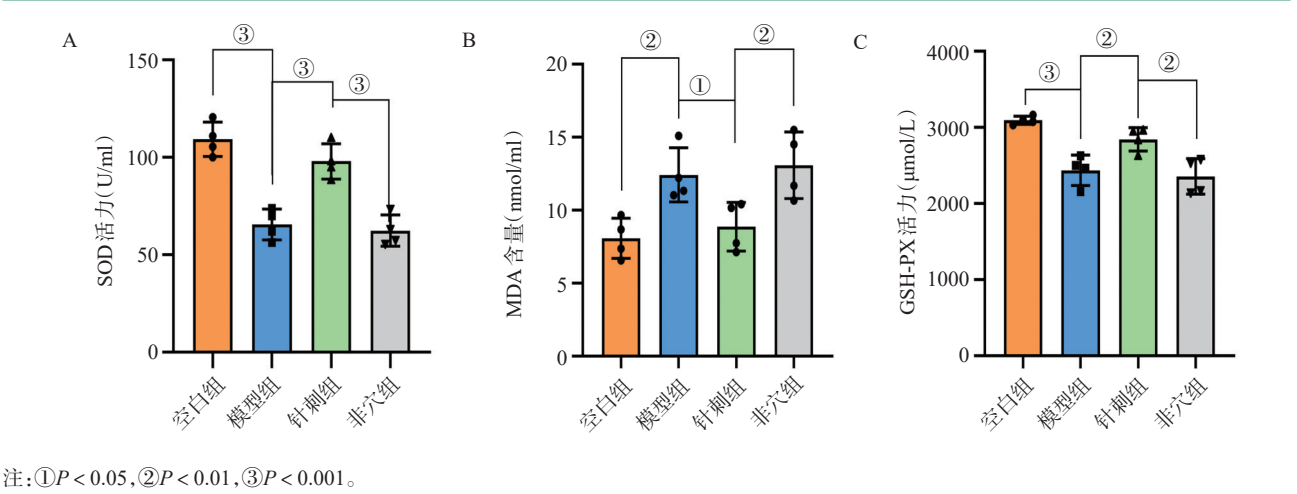
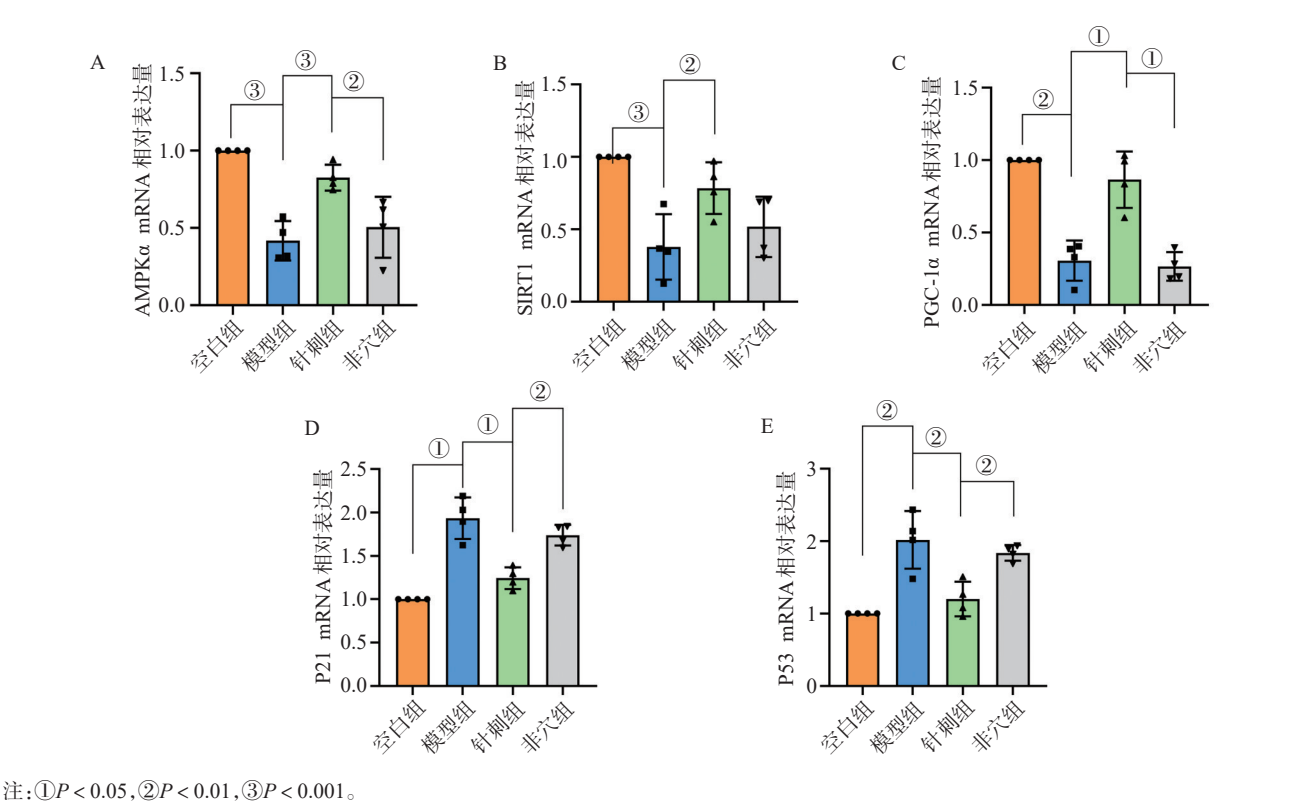


图4 各组大鼠腰部骨骼肌组织中AMPKα、SIRT1、PGC-1α、P21、P53的mRNA相对表达量 (x±s,n=4)



机体的综合代谢和体能^[22]。有研究表明,D-gal促衰老模型的大鼠会出现肌肉质量的减少,致使体重下降^[7]。在本次实验中发现长期注射D-gal后,和空白组相比,模型组体重增长速率较慢,且终末体质量增长率差异具有显著性。同时,模型组大鼠血清中抗氧化相关指标SOD和GSH-PX表达下降,MDA表达上升。实时荧光定量PCR结果显示,模型组大鼠骨骼肌中P21 mRNA和P53 mRNA的相对表达量上调。以上结果表明,在本实验中,衰老模型已成功构建,D-gal可以加速大鼠的衰老进程。

骨骼肌作为人体内最大的运动和代谢器官,其完整性是人类稳定性、活动性和功能独立性的重要保障^[23]。腰部骨骼肌在维持腰椎的稳定性和支撑功能中起着重要作用。腰部骨骼肌结构和功能的正常维持是腰椎稳定的基础,在腰椎疾病的预防及治疗中起关键作用^[24]。衰老使得神经肌肉突触的形态发生改变,进而引发骨骼肌的功能下降和肌肉萎缩,肌肉出现数量、质量、力量上的下降和功能的减退^[25]。机体因衰老而引起腰部骨骼肌一系列的病理变化是诱发腰痛的关键因素。随着人民生活方式的改变和人口老龄化的加剧,中国腰痛患者人数逐年递增,是目前全球腰痛患者人数最多的国家^[26],如何防治腰痛是当前关注的焦点与亟待解决的问题之一。

研究表明,衰老性骨骼肌萎缩致使腰背部肌肉力量下降,诱发腰椎后凸畸形,出现身体残疾和生活质量差等情况,相比年轻人,老年慢性腰痛患者的骨骼肌质量、腰多裂肌和竖脊肌横截面积显著降低^[27]。骨骼肌萎缩会反映在肌肉纤维数量或者肌纤维横截面积的大小上^[28]。肌肉力量下降是评估衰老性骨骼肌萎缩的重要标准,目前主要对实验动物采用抓力仪测定实验、网格测试来进行肌力的检测^[29]。在本研究中,长期注射D-gal的大鼠腰部骨骼肌出现不同程度的萎缩,腰肌纤维平均直径、平均面积以及肌肉力量均小于空白组大鼠。以上结果提示模型组大鼠机体受到氧化应激损伤,腰部骨骼肌明显萎缩,体重增长速率减缓,肌肉力量下降,表明D-gal成功诱导大鼠腰部骨骼肌衰老性萎缩。

既往对衰老性骨骼肌萎缩的治疗研究多从运动干预与营养治疗方面开展^[30-31]。本实验中采取针刺夹脊穴对腰部衰老性骨骼肌萎缩进行干预。夹脊穴

位于人体第1胸椎至第5腰椎棘突下两侧,后正中线旁开0.5寸,两侧各17穴。督脉和足太阳膀胱经循行于腰脊正中、背部两侧和下肢外后侧,与腰痛的发病部位相吻合,临床上腰痛取穴大多以督脉及足太阳膀胱经为主^[32]。“经脉所过,主治所及”,腰夹脊穴处于督脉、足太阳膀胱经的经气外延重叠覆盖处,是沟通督脉、足太阳膀胱经的枢纽,故针刺该穴可调经通气,调节机体平衡,有助于改善腰痛患者腰椎功能,缓解疼痛,是针刺治疗腰痛的常用穴,对各脏腑疾病也有较好的治疗效果^[10]。

针刺能够通过调节自由基代谢以延缓衰老进程^[33]。通过研究针刺延缓骨骼肌衰老的作用途径和潜在靶点,可为针刺改善腰部骨骼肌萎缩提供依据,对促进老年人群的健康和改善老年人群的生活质量具有重要意义。邵明璐等^[34]发现针刺夹脊穴能够抵抗氧化应激,提高机体SOD活性,并有效减少MDA的含量,从而保护心肌。在本研究结果中针刺夹脊穴降低了衰老大鼠血清中MDA的水平,提高血清SOD和GSH-PX的活性,P21 mRNA、P53 mRNA表达量下降,减轻了细胞损伤和衰老程度,从而提高机体的抗氧化功能。HE染色结果提示针刺使衰老腰部骨骼肌纤维组织之间连接更加紧密,圆形化程度减轻,延缓了腰部骨骼肌的萎缩程度。进行针刺干预后,衰老大鼠的肌力有所回升,表明针刺夹脊穴可以增强大鼠的肌肉力量,改善衰老大鼠的运动能力。进一步结果表明,针刺可减轻D-gal诱导的骨骼肌衰老和损伤。

AMPK是一种异源三聚丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,由催化 α 亚基和调节 β 和 γ 亚基组成^[35]。AMPK通过转录激活Nampt(nicotinamide phosphoribosyl transferase),使机体中NAD/NADH比值升高,从而激活另一能量感受器——SIRT1^[29]。SIRT1存在于哺乳动物细胞的细胞核和细胞质中,参与细胞凋亡,热量限制,能量代谢,DNA修复,自噬,抑制氧化应激和炎症反应,改善线粒体功能和抗衰老等生物过程^[36-37]。AMPK磷酸化和SIRT1去乙酰化的共同作用下完全激活PGC-1 α ^[33]。PGC-1 α 参与到骨骼肌中的线粒体合成、纤维组成,PGC-1 α 表达的减少对骨骼肌有负面影响^[13]。PGC-1 α 可通过上调超氧化物歧化酶-2、谷胱甘肽过氧化物酶1、过氧化氢酶和解

偶联蛋白的基因表达来调节细胞的氧化剂-抗氧化稳态^[38]。AMPK、SIRT1 和 PGC-1 α 是骨骼肌中调控氧化应激和线粒体功能的重要因子,因此 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路被视为对抗肌肉萎缩的潜在药物靶点^[39]。Weilin Xu 等^[40]发现黑皮质素受体-1 的激活可以调节 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路,从而连续降低细胞内氧化应激水平,保护正常的线粒体代谢,减少神经元凋亡,从而缓解蛛网膜下腔出血后的早期脑损伤。Y Yu 等^[41]研究发现小檗碱通过激活自然衰老大鼠骨骼肌中的 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路可以改善肌肉功能障碍。为研究针刺夹脊穴是否通过 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路影响骨骼肌衰老,本实验对衰老性骨骼肌萎缩的大鼠进行针刺干预后检测大鼠腰部骨骼肌 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路相关基因的表达。结果显示,模型组 AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α mRNA 基因表达明显下调;经针刺干预后,大鼠腰部骨骼肌内 AMPK α 、SIRT1、PGC-1 α mRNA 相对表达量明显上升。说明在衰老过程中,大鼠腰部骨骼肌发生了 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路的活化,进而发挥了延缓腰部骨骼肌衰老的作用。

综上,针刺夹脊穴可缓解腰部骨骼肌的萎缩程度,增强肌肉力量,抑制机体内氧化应激水平,改善大鼠腰肌的衰老情况,这可能是通过 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路发挥作用。但是衰老性骨骼肌萎缩的机制复杂,在本研究中只从基因表达水平上对通路相关分子进行检测,后续有待增加通路相关分子在蛋白水平上的检测以增强说服力。同时,为了更进一步确定 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路在针刺夹脊穴改善衰老性骨骼肌萎缩中的作用机制,后续可通过设置信号通路上游 AMPK 的阻断剂或激动剂开展下一步的研究。

参考文献

- [1] Whitman ET, Ryan CP, Abraham WC, et al. A blood biomarker of the pace of aging is associated with brain structure: replication across three cohorts[J]. *Neurobiology of Aging*, 2024, 136: 23—33.
- [2] Zhang Y, Ding C, Cai Y, et al. Astilbin ameliorates oxidative stress and apoptosis in D-galactose-induced senescence by regulating the PI3K/Akt/m-TOR signaling pathway in the brains of mice[J]. *International Immunopharmacology*, 2021, 99:108035.
- [3] 丁恺志, 汪楚楚, 唐崇茂, 等. 骨骼肌萎缩机制的研究进展[J]. *江西科技师范大学学报*, 2023(6):103—108.
- [4] Powers SK. Can antioxidants protect against disuse muscle atrophy?[J]. *Sports Medicine*, 2014, 44 Suppl 2(Suppl 2): S155—165.
- [5] Sakai Y, Watanabe T, Wakao N, et al. Proprioception and geriatric low back pain[J]. *Spine Surgery and Related Research*, 2022, 6(5):422—432.
- [6] Vickers AJ, Vertosick EA, Lewith G, et al. Acupuncture for chronic pain: update of an individual patient data meta-analysis[J]. *The Journal of Pain*, 2018, 19(5):455—474.
- [7] 林建平, 郭明玲, 金京, 等. 针刺疗法对衰老大鼠腰肌组织形态学及细胞凋亡的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(12):1975—1979+1985.
- [8] 余世亮, 王建斌, 杨庆镗. 电针华佗夹脊穴对慢性腰痛患者焦虑情绪和疲劳程度的影响[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2020, 18(24):106—108.
- [9] 吴旭明, 潘星安, 陈静. 穴位埋线联合常规针刺治疗慢性非特异性腰痛患者的效果分析[J]. *实用中西医结合临床*, 2022, 22(2):98—100+110.
- [10] 程鹏, 张继玉. 针刺腰夹脊穴治疗腰椎间盘突出症的临床疗效及对腰背伸肌群肌力、炎症指标、疼痛调节因子的影响[J]. *河北中医*, 2021, 43(9):1546—1549+1558.
- [11] 赵云丽, 袁勇, 马晓莉, 等. 基于 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路研究香青兰总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护机制[J]. *中国药房*, 2021, 32(3):278—283.
- [12] 闫燕, 宝群, 苗永政, 等. 线粒体抗氧化剂 MitoTEMPO 对糖尿病肾脏疾病大鼠肾组织腺苷酸活化蛋白激酶/沉默信息调节因子 1/过氧化物酶体增殖激活受体 γ 共激活因子 1 α 信号通路及氧化应激影响的研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2022, 30(4):284—290.
- [13] Kou X, Li J, Liu X, et al. Ampelopsin attenuates the atrophy of skeletal muscle from d-gal-induced aging rats through activating AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling cascade[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 90:311—320.
- [14] Ruan Q, Hu X, Ao H, et al. The neurovascular protective effects of huperzine A on d-galactose-induced inflammatory damage in the rat hippocampus[J]. *Gerontology*, 2014, 60(5):424—439.
- [15] 黄华, 陈慧娥, 余文英, 等. 电针“夹脊”穴对坐骨神经慢性损伤大鼠镇痛后效应的影响[J]. *针刺研究*, 2020, 45(1): 40—45.
- [16] 何力, 吴苏宁, 郭思佳, 等. 针刺对腰椎间盘突出症大鼠的镇痛作用及对 ERK 信号通路的影响[J]. *中医药导报*, 2021, 27(10):49—53+75.
- [17] Kim J, Cho SY, Cho D, et al. Oxidative stress & FoxO

- transcription factors in cardiovascular aging[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2017, 24(9):943—949.
- [18] 刘尧, 张建军, 李振皓, 等. 川芎对衰老大鼠脑保护作用及对PI3K/AKT/HIF-1 α 通路的影响[J]. *世界中医药*, 2023, 18(1):45—51.
- [19] 刘建亚, 冯文静, 王仁萍, 等. D-半乳糖致衰老动物模型及其机制研究进展[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2018, 17(3):224—227.
- [20] 宋冲, 杜青, 李心亮. 葛根素对D-半乳糖诱导衰老小鼠心脏的保护作用[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2024, 30(1):35—40.
- [21] 田川, 叶丽, 赵晓娟, 等. D-半乳糖诱导青年树鼯卵巢衰老[J]. *实验动物科学*, 2023, 40(5):12—18.
- [22] 张常娥, 魏伟, 刘英华, 等. D-半乳糖亚急性衰老大鼠模型的建立及评价[J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32(4):742—745.
- [23] Gibbons D, McDonnell JM, Ahern DP, et al. The relationship between radiological paraspinal lumbar measures and clinical measures of sarcopenia in older patients with chronic lower back pain[J]. *Journal of Frailty, Sarcopenia and Falls*, 2022, 7(2):52—59.
- [24] 杜凯薇, 张进. 腰椎旁肌的临床相关研究进展[J]. *中国药物与临床*, 2020, 20(15):2542—2545.
- [25] Lepore E, Casola I, Dobrowolny G, et al. Neuromuscular junction as an entity of nerve-muscle communication[J]. *Cells*, 2019, 8(8):906.
- [26] Xu S, Qi J, Liu C, et al. Evaluation of three decades of the burden of low back pain in China before COVID-19: estimates from the global burden of disease database 2019[J]. *Journal of Global Health*, 2024, 14:04006.
- [27] 尤立攀, 魏波. 骨骼肌质量与老年退行性腰椎管狭窄患者椎管狭窄程度的相关性分析[J]. *实用骨科杂志*, 2022, 28(5):390—393+411.
- [28] Tieland M, Trouwborst I, Clark BC. Skeletal muscle performance and ageing[J]. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 2018, 9(1):3—19.
- [29] 贾新傲, 唐玉娇. 肌少症小鼠模型的研究进展[J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(3):404—410.
- [30] 高志强, 陈红霞. 营养与运动干预对肌肉减少症防治效果的研究进展[J]. *公共卫生与预防医学*, 2023, 34(5):120—124.
- [31] 梁馨月, 郑烜升, 朱理安, 等. 肌肉骨骼减少症干预进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28(11):1620—1624.
- [32] 裴兴虹, 秦义, 李墨婧, 等. 艾灸治疗腰椎间盘突出症常用腧穴的可视化分析[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2018, 20(10):1860—1866.
- [33] 毛佳楠, 罗伟, 王莉灵, 等. 朱瑾缓慢捻进法对衰老大鼠超氧化物歧化酶表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(14):3522—3526.
- [34] 邵明璐, 李洋, 崔华峰, 等. 针刺预处理对大鼠心肌缺血再灌注氧化应激损伤的保护作用[J]. *中国针灸*, 2017, 37(3):285—290.
- [35] Yeo EJ. Hypoxia and aging[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2019, 51(6):1—15.
- [36] Luo G, Jian Z, Zhu Y, et al. Sirt1 promotes autophagy and inhibits apoptosis to protect cardiomyocytes from hypoxic stress[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019, 43(5):2033—2043.
- [37] Wan X, Garg NJ. Sirtuin control of mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and inflammation in chagas disease models[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11:693051.
- [38] Rizk FH, Soliman NA, Kashef SM, et al. Lipoxin A4 attenuated dexamethasone-induced muscle atrophy via activation of PGC-1 α /Nrf2/TFAM pathway[J]. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2023, 79(1):107—115.
- [39] Li Q, Wu J, Huang J, et al. Paeoniflorin ameliorates skeletal muscle atrophy in chronic kidney disease via AMPK/SIRT1/PGC-1 α -mediated oxidative stress and mitochondrial dysfunction[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13:859723.
- [40] Xu W, Yan J, Ocak U, et al. Melanocortin 1 receptor attenuates early brain injury following subarachnoid hemorrhage by controlling mitochondrial metabolism via AMPK/SIRT1/PGC-1 α pathway in rats[J]. *Theranostics*, 2021, 11(2):522—539.
- [41] Yu Y, Zhao Y, Teng F, et al. Berberine improves cognitive deficiency and muscular dysfunction via activation of the AMPK/SIRT1/PGC-1 α pathway in skeletal muscle from naturally aging rats[J]. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 2018, 22(6):710—717.