

三种针法对快速老化痴呆模型小鼠老化度评分及行为学影响研究

罗本华 张雪竹 赵岚 张荣超 韩景献 于建春

【摘要】 目的 探讨三种针刺方法对快速老化痴呆模型小白鼠 (senescence-accelerated mice prone 8, SAMP8) 认知功能的影响并进行针法优选。**方法** 选取 SAMP8 小鼠 60 只随机分为 SAMP8 对照组、针刺腹穴组、针刺背俞穴组、针刺腹背穴组和针刺非穴组, 每组 12 只, 并设抗快速老化亚系小鼠 (senescence accelerated mouse resistance 1, SAMR1) 对照组 12 只。针刺腹穴组采用“益气调血, 扶本培元”针法, 针刺膻中、中脘、气海及双侧血海、足三里; 针刺背俞穴组采用双侧肺俞、脾俞和肾俞; 针刺腹背穴组采用针刺腹穴加背穴组穴; 针刺非穴组取双侧肋下两个固定非经非穴点; SAMP8 对照组与 SAMR1 对照组均不做任何治疗。应用 Morris 水迷宫观测各组小鼠空间参考记忆能力的变化, 分析针刺对 SAMP8 小鼠认知功能的影响。**结果** (1) 三种针刺方法均能显著性降低老化度评分, 而腹穴组和腹背穴针刺有肯定、显著的疗效优势。(2) SAMP8 小鼠存在学习记忆的获得、巩固、保留和再学习方面的认知损害, 而三个针刺方法都能显著地改善这种认知功能损害且具有穴位特异性; 其中, 在隐蔽平台中, 针刺背俞穴组起效早但疗效不稳定, 针刺腹背穴组起效稳定且从第三天保持最短的平均潜伏期时间; 反向试验中, SAMP8 针刺腹穴组显示更快和更稳定的作用。**结论** 三种不同针法均能抵抗 SAMP8 快速老化进程, 改善 SAMP8 认知功能障碍, 而改善特点不同。动物实验支持原有“益气调血、扶本培元”针法处方。

【关键词】 快速老化痴呆模型小鼠 (SAMP8); Morris 水迷宫; 认知功能; 针灸疗法; 老化度评分

【中图分类号】 R254 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2013.03.002

Study of three acupuncture improving cognitive deficits in water maze and senescence score of SAMP8 LUO Ben-hua, ZHANG Xue-zhu, ZHAO Lan, et al. Faculty of Zhuang Medicine of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China

Corresponding author: YU Jian-chun, E-mail: yujianchun2000@hotmail.com

【Abstract】 Objective Study the effect of three acupuncture prescriptions on the behavior and appearance of senescence, the cognitive functions of alzheimer disease (AD) model mice and to select the optimal acupuncture method. **Methods** Twelve male 8-month-old senescence accelerated mouse resistance 1 (SAMR1) and 60 male age-matched senescence-accelerated mice prone 8 (SAMP8) were randomly divided into six groups: SAMR1 control group, SAMP8 control group, SAMP8 belly-acup, SAMP8 Back-Shu-acup, SAMP8 belly-back-acup and SAMP8 non-acupoint control group. The SAMP8 belly-acup group were given “Yiqitiao xue (replenishing qi and regulating blood) and Fubenpeiyuan (reinforcing the anti-pathogenic qi and consolidating the body resistance)” acupuncture, the SAMP8 Back-Shu-acup group were acupunctured at three Back-Shu acupoints, and the SAMP8 belly-back-acup group were acupunctured at SAMP8 belly-acup group’s and SAMP8 Back-Shu-acup group’s acupoints. The SAMP8 control group or SAMR1

基金项目: 天津市应用基础及前沿技术研究计划重点项目 (11JCZDJC20100); 天津市高等学校科技发展基金 (20090214)

作者单位: 530001 南宁, 广西中医药大学壮医药学院 (罗本华); 天津中医药大学第一附属医院针灸研究所 (罗本华、张雪竹、赵岚、韩景献、于建春), 分子生物学实验室 (张雪竹、赵岚、于建春); 天津中医药大学 [张荣超 (研究生)]

作者简介: 罗本华 (1968 -), 博士, 副主任医师。研究方向: 针灸与壮医防治神经系统及老年性疾病研究。E-mail: luobenhua1968@163.com

通讯作者: 于建春 (1966 -), 博士, 研究员。研究方向: 脑老化及针刺防治的分子机理。E-mail: yujianchun2000@hotmail.com

control group mice were given only grasping treatment, and the SAMP8 non-acupoint control group mice were stimulated on the non-acupoint. Cognitive function was evaluated by the Morris water maze test, and the behavior and appearance of senescence was evaluated by the grading score of senescence system. **Results** The data showed that SAMP8 displayed obvious impairments of acquisition, consolidation, retention and relearning ability of learning and memory and overall accelerated senescence characteristics; and three acupuncture methods could degree the senescence score and enhance all the aspects' cognitive function of those impairments with acupoint-related specificity. Among acupuncture groups, the SAMP8 Back-Shu-acup group took effects rapidly but unsteadily, the SAMP8 belly-back-acup group took effects steadily with shortest time from third training day in the hidden platform trial, but the SAMP8 belly-acup group spent time least in the reversal trial. While in the test of spatial memory retention, either SAMP8 belly-acup group or SAMP8 belly-back-acup group were better than SAMP8 Back-Shu-acup group. **Conclusion** The results suggested the three acupuncture methods could resist the process of senescence and improve the whole cognitive deficits of SAMP8 and influence the learning and memory abilities in different ways. In the whole, the study supports "Yiqitaoxue and Fubenpeiyuan" acupuncture.

【Key words】 Senescence-accelerated mice prone 8 (SAMP8); Morris water maze; Cognitive function; Acupuncture; Senescence score

阿尔茨海默病(alzheimer's disease, AD)是伴随机体衰老而出现的神经系统慢性、退行性病变,临床上以记忆减退、认知障碍和人格改变为特征。快速老化痴呆模型小鼠(senescence-accelerated mice prone 8, SAMP8)是自然发病的老年性痴呆模型,与同源的抗快速老化亚系小鼠(senescence accelerated mouse resistance 1, SAMR1)比较有明显的老化特征,老化评分明显增高,也存在明显的学习记忆障碍。本实验以 SAMP8 为研究对象, SAMR1 为正常对照,以本课题组有长期临床与实验研究基础的“益气调血、扶本培元”针法(针刺腹穴组)为基础干预方法,又拟以动物试验先行背俞穴组及腹背配穴组的干预方法,检测 SAMP8 痴呆动物模型的老化评分及水迷宫行为学的影响,比较研究三种不同干预针法的疗效异同,进行“从三焦气化失司论治痴呆”及“益气调血、扶本培元”治则为基础的配方组穴优选方案探讨。

1 材料和方法

1.1 研究对象

健康雄性 8 月龄 SAMR1 12 只和雄性 8 月龄 SAMP8 60 只,由天津中医药大学第一附属医院动物中心提供(天津中医药大学第一附属医院动物中心自繁殖,自己应用,没有批号)。

1.2 动物分组

所有实验动物共分 6 组。按随机数字表法随机将 60 只 SAMP8 分为 5 组,即 SAMP8 对照组 12 只、针刺腹穴组 12 只、针刺背俞穴组 12 只、针刺腹背穴组 12 只、针刺非穴组 12 只,以及 12 只 SAMR1 为

SAMR1 对照组。

实验前各组小鼠的出生天数与体重因素比较如下:(1)出生天数均为 8 月龄,经方差分析显示各组间差异无统计学意义。(2)SAMR1 对照组平均体重为 (33.58 ± 1.04) g, SAMP8 对照组 (29.4 ± 1.85) g, 针刺腹穴组 (30.05 ± 1.32) g, 针刺背俞穴组 (30.05 ± 1.04) g, 针刺腹背穴 (29.86 ± 1.58) g, 针刺非穴组 (29.7 ± 1.89) g。t 检验显示 SAMR1 小鼠与 SAMP8 小鼠比较 $P \leq 0.01$, 差异有统计学意义, SAMR1 有体重优势;而单因素方差分析显示 SAMP8 各组间差异无统计学意义,提示 SAMR1 小鼠存在体重优势,可能对水迷宫成绩有一定的影响。SAMP8 的体重差异是由 SAMR1 基因自然变异经筛选出的 SAMP8 系列,是群体固有的,二者是国际公认两种研究对照鼠模型。

1.3 处理方法

针刺腹穴组选取膻中、中脘、气海及双侧血海、足三里,穴位定位根据《动物针灸穴位图谱》^[1]。针刺方法:膻中、中脘、气海、足三里穴分别施捻转补法 30 秒,血海穴施捻转泻法 30 秒。针刺背俞穴组选取双侧肺俞穴、脾俞穴和肾俞穴,均针 0.05 ~ 0.1 cm,分别施捻转补法 30 秒。针刺腹背穴组是取以上腹穴和背俞穴组,按以上操作。针刺非穴组取双侧肘下固定非穴点,作为对照刺激点,行平补平泻捻转手法各 30 秒。SAMP8 对照组和 SAMR1 对照组施加与针刺组相同程度的捉抓。各组每天做相应处理 1 次,第 8 天停 1 次,连续 14 次。第 15 天休息 1 次,第 16 天上午各行水迷宫训练 1 次,每

次 90 秒;接下来 10 天每天均先行针刺相应穴位及相应治疗后,休息至少 1 小时以上,接着每隔 4 小时各做水迷宫 1 次,每天行 2 次水迷宫治疗。

1.4 实验方案

1.4.1 老化度评分 老化度评分标准依外在形体及行为的老化改变,客观地给动物评分。包括反应性、被动性逃避反应、皮毛光泽、皮毛粗糙程度、脱毛程度、皮肤溃病、眼周损害、角膜混浊、角膜溃疡、白内障、脊柱后凸等 11 项指标,每项指标再划分为 3~5 级不同等级,标定分值。积分越高则老化度越高。

1.4.2 行为学测试 Morris 水迷宫参照文献制作^[2-4]。实验时,一摄像头置于水迷宫水池中央的上方约 2 m 处,自动采集动物游泳图像,所收集信号直接输入计算机,由图像自动采集和分析系统(中国医学科学院药物研究所提供)自动分析和处理,包括动物的逃避潜伏期、游泳路径、不同象限的停留时间、穿越原平台的次数、初始角度及游泳路线的长度、搜索策略及中、外环游泳距离百分比等参数。水迷宫实验方法与操作参考文献进行^[5]。试验前 1 天,让动物在不含平台的水池中自由游泳 90 秒,上午、下午各一次,使其熟悉迷宫环境;实验程序包括第 1 至第 5 天共 5 天的隐蔽平台试验,第 6 天为探索试验,第 7 至第 9 天共 3 天反向试验及第 10 天的可视平台试验^[5-6],以评价 SAMR1 和 SAMP8 学习记忆能力的变化。

1.5 数据处理与统计分析

老化度评分数据处理:使用 SPSS 13.0 统计软件处理,采用 ANOVA 方差分析。 $P \leq 0.05$ 为检验显著性差异水准。

水迷宫数据处理:所有数据用均数 \pm 标准差

($\bar{x} \pm s$)表示,并用 SPSS 13.0 统计软件处理。隐蔽平台试验及反向试验中所获得的平均潜伏期时间数据采用重复测量数据的双因素方差分析(two-way ANOVA with repeated measures)^[7],以组别作为组间因素,不同的训练天数作为组内因素。隐蔽平台试验及反向试验每日亦行平均潜伏期和平均速度方面的单因素方差分析及组间两两比较。在探索试验及可视平台试验中样本间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA)及组间两两比较。出生天数和体重变化采用单因素方差分析。 $P \leq 0.05$ 为检验显著性差异水准。

实验后由于各组有不同数量的小鼠脱落,最后统计数据为 SAMR1 对照组 12 只、SAMP8 对照组 10 只、针刺腹穴组 10 只、针刺背俞穴组 11 只、针刺腹背穴 11 只、针刺非穴组 10 只。

2 结果

2.1 老化度评分

实验前后 SAMP8 各组 and SAMR1 的老化度评分结果见表 1。

治疗前老化评分值经单因素方差分析方差为 $F_{(5,58)} = 59.365, P < 0.01$,组间差异有统计学意义,SAMP8 各组间两两比较差异无统计学意义。SAMR1 对照组与 SAMP8 各组比较 $P < 0.01$ (t 检验结果相同),而 SAMR1 评分明显低于 SAMP8 各组,说明 8 月龄的 SAMR1 小鼠衰老程度低于 8 月龄 SAMP8 小鼠,且从老化评分看,SAMP8 小鼠已呈现迅速老化特征。

治疗后老化评分经单因素方差分析, $F_{(5,58)} = 64.81, P < 0.01$,组间差异有统计学意义,而诸组间两两比较显示,SAMR1 对照组与 SAMP8 各组比较均

表 1 实验前后 SAMP8 和 SAMR1 的老化度评分结果($\bar{x} \pm s$)

组别	实验前例数	实验前老化评分	实验后例数	实验后老化评分
SAMR1 对照组	12	1.22 \pm 0.55	12	1.46 \pm 0.62
SAMP8 对照组	12	6.30 \pm 0.95 ^d	10	6.70 \pm 0.82 ^d
针刺腹穴组	12	6.20 \pm 1.03 ^d	10	5.30 \pm 0.67 ^{bcd}
针刺背俞穴组	12	6.36 \pm 0.92 ^d	11	5.95 \pm 0.99 ^{ad}
针刺腹背穴	12	6.23 \pm 0.98 ^d	11	5.32 \pm 0.64 ^{bcd}
针刺非穴组	12	6.10 \pm 0.99 ^d	10	6.60 \pm 1.07 ^d

注:与 SAMP8 对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与针刺非穴组比较,^c $P < 0.01$;与 SAMR1 对照组比较,^d $P < 0.01$

$P < 0.01$; 而针刺腹穴组、针刺腹背穴组分别与 SAMP8 对照组和针刺非穴组比较, 均 $P < 0.01$, 差异有统计学意义; 针刺背俞穴组与 SAMP8 对照组比较, $P < 0.05$, 差异有统计学意义, 而与针刺非穴组比较差异无统计学意义; 三种针方法间差异无统计学意义。三种针刺组自身前后经配对 t 检验: 针刺腹穴组治疗后老化分值降低 ($t = 2.862, P < 0.05$), 差异有统计学意义; 针刺腹背穴组治疗后老化分值降低, 差异有统计学意义 ($t = 3.194, P < 0.01$); 针刺背俞穴组 ($t = 2.170, P > 0.05$) 治疗前后老化分值差异无统计学意义。SAMP8 对照组和针刺非穴组实验处理前后没有变化。以 SAMP8 对照组为对照, 针刺腹穴组、针刺背俞穴组及针刺腹背组三种针刺治疗后老化分值均有不同程度的降低。因此, 三种针刺方法均对抵抗 SAMP8 小鼠快速老化进程及改善老化评分有一定的作用, 腹穴和腹背穴针刺组有相对肯定的疗效优势。

2.2 行为学研究结果

2.2.1 隐蔽平台试验 在连续 5 天(第 1 天至第 5 天)的隐蔽平台试验中, 双因素方差分析检验结果为 $F_{(5,58)} = 12.447, P < 0.01$, 所有 8 月龄 SAMR1 和 SAMP8 小鼠的逃避潜伏期均随训练天数的增加而明显缩短, 学习成绩稳步提高, 反映针刺治疗和水迷宫的训练有显著性的改善学习和记忆作用; 交互作用检验为 $F_{(20,232)} = 1.016, P < 0.05$, 说明训练天数与组间因素没有交互作用; 而诸组间总体比较的方差为 $F_{(5,58)} = 23.188, P < 0.01$, 说明诸组间总体有显著性差异。诸组间详细两两比较发现: (1) SAMP8 对照组的平均潜伏期下降缓慢而 SAMR1 对照组下降明显, 于第二天二者就出现显著性的差异; (2) 三个针刺组中, 针刺背俞穴组最早于第二天出现比 SAMP8 对照组和针刺非穴组更短的显著性差异平均潜伏期, 但此后疗效不稳定; (3) 从第 3 天到第 5 天, 针刺腹穴组和针刺腹背穴组的逃避潜伏期均较 SAMP8 对照组和针刺非穴组更短, 有显著性差异, 且疗效稳定, 而 SAMP8 对照组与针刺非穴组没有差异; (4) 虽然三个针刺组间, 平均潜伏期时间呈现“针刺腹背穴组 < 针刺腹穴组 < 针刺背俞穴组”的趋势。实验结果提示: SAMP8 小鼠存在学习记忆获得方面的认知损害, 而三个针刺方法都能显著地改善这种认知功能损害且具有穴位特异性; 其中, 针刺背俞穴组起效早但疗效不稳定。由此, 课题组认为针刺腹穴组、针刺腹背穴组是可能的优选方法。各组

小鼠在水迷宫中的平均逃避潜伏期时间见表 2 第 1 天至第 5 天数据。

2.2.2 反向试验 反向试验见表 2 第 7 天至第 9 天数据。在连续 3 天的反向试验中, 双因素方差分析检验结果为 $F_{(5,58)} = 4.732, P < 0.05$, 所有 8 月龄 SAMR1 和 SAMP8 小鼠的逃避潜伏期时间均随训练天数的增加而逐渐下降趋势, 再学习成绩稳步提高, 反映针刺治疗和水迷宫的训练有显著性的改善再学习和记忆作用; 交互作用检验为 $F_{(10,116)} = 1.342, P < 0.05$, 说明训练天数与组间因素之间没有交互作用; 而诸组间总体比较的方差为 $F_{(5,58)} = 4.02, P < 0.01$, 说明诸组间总体差异有统计学意义。组间因素详细两两比较发现: (1) SAMP8 对照组和针刺非穴组的逃避潜伏期时间下降缓慢, 而 SAMR1 对照组下降显著; 于第 8 天, SAMP8 对照组的逃避潜伏期比 SAMR1 对照组、针刺腹穴组均长, 差异有统计学意义; (2) 于第 9 天, 针刺腹背穴组的平均潜伏期也比 SAMP8 对照组和针刺非穴组更短, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); (3) 三个针刺组中, 针刺腹背穴组和针刺腹穴组的平均潜伏期均较针刺背俞穴组更短, 差异有统计学意义。反向试验结果提示: SAMP8 小鼠存在记忆巩固和再学习能力的损害, 这三种针法均能显著的改善这种认识功能损害, 并显示穴位特异性, 其中, 针刺腹穴组显示更快和更稳定的作用。

图 1 显示水迷宫中隐蔽平台与反向平台试验中各组小鼠平均逃避潜伏期的变化趋势。在隐蔽及反向平台试验中, 代表各组小鼠学习成绩的逃避潜伏期时间均随训练天数的增加而有明显缩短的趋势; SAMP8 对照组(同样针刺非穴组)的逃避潜伏期时间下降缓慢而 SAMR1 对照组下降明显。

2.2.3 空间探索试验 实验动物在原平台象限停留时间见表 2 第 6 天数据。单因素方差统计显示 $F_{(5,58)} = 9.194, P < 0.01$, 说明诸组间差异有统计学意义; SAMP8 对照组(同样针刺非穴组)比 SAMR1 对照组短 ($P < 0.05$), 针刺腹背穴组 ($P < 0.01$)、针刺腹穴组 ($P < 0.01$)、针刺背俞穴组 ($P < 0.05$) 三个针刺组均比 SAMP8 对照组和针刺非穴组更长; 且针刺腹背穴组 ($P < 0.01$) 和针刺腹穴组 ($P < 0.01$) 均比针刺背俞穴组长。在穿越原平台的次数上, 组间差异有统计学意义 ($F_{(5,58)} = 5.922, P < 0.05$); SAMP8 对照组(同样针刺非穴组)比 SAMR1 对照组穿越原平台次数 ($P < 0.05$) 更少, 且差异有统计学意义; 而针刺腹背穴组 ($P < 0.01$)、针刺腹穴组 ($P <$

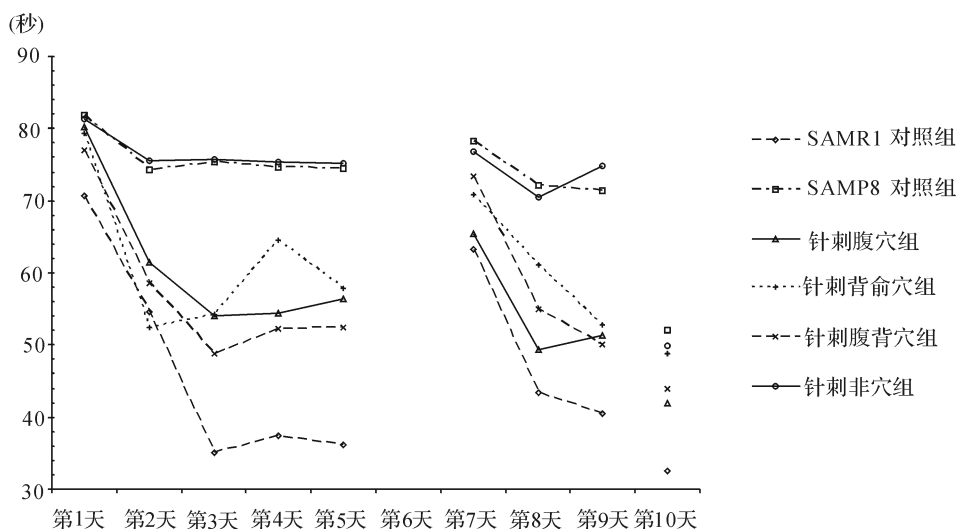


图1 隐蔽、反向及可视平台试验中各组小鼠平均逃避潜伏期的趋势图

0.01)、针刺背俞穴组($P < 0.05$)三个针刺组均比 SAMP8 对照组和针刺非穴组次数多。实验结果提示 SAMP8 小鼠记忆保持能力方面有损害,三种针刺方法均能显著地改善这种认知损害,且有穴位特异性。Gallagher M (1993) 等^[8]确定的探索试验空间学习能力标准为:如果小鼠在原平台象限停留时间超过总时间的三分之一和穿越原平台超过 2 次,就说明该小鼠学会了平台的空间定位。以此为标准,与正常 SAMR1 (在原平台象限停留时间 20.79 秒,穿越原平台 2.33 次)小鼠相比, SAMP8 (13.64 秒, 1.05 次)小鼠存在学习记忆保留能力的损害;而在三个针刺组中,针刺腹穴组小鼠 (20.26 秒, 2.15 次)和针刺腹背穴组小鼠 (20.48 秒, 2.05 次)已经学会了平台的空间定位,因而能更好地完成任务,而针刺背俞穴组小鼠 (17.06 秒, 1.77 次)与 SAMP8 针刺非穴组 (13.79 秒, 1.20 次)没有效果。

2.2.4 可视平台试验 在空间训练的第 10 天最后进行,见表 2 第 10 天数据。单因素方差分析结果为 $F_{(5,58)} = 1.71, P > 0.05$,六组间平均逃避潜伏期时间总体差异无统计学意义;但两两比较发现(表 2), SAMP8 对照组、针刺非穴组及针刺背俞穴组均比 SAMR1 对照组更长,均有显著性差异,这主要归因于与同龄 SAMR1 小鼠比较,8 月龄 SAMP8 小鼠逃避危险水域的动机明显下降^[9],这是 8 月龄 SAMP8 小鼠学习成绩较差的一个重要原因;而针刺腹背穴组及针刺腹穴组平均逃避潜伏期时间,介于 SAMP8 对照组和 SAMP1 对照组之间,且与 SAMP8 对照组

比较,差异无统计学意义,和 SAMP1 对照组比较,差异也是无统计学意义的,说明针刺腹背穴及针刺腹穴两种方法在一定程度上可增强 SAMP8 小鼠逃避危险水域的动机,降低平均逃避潜伏期时间,这也是该二种针法改善学习记忆的重要原因之一。对运动速度的单因素分析显示,六组总体比较 $F_{(5,58)} = 2.58, P < 0.05$,组间差异有统计学意义;两两比较发现, SAMR1 对照组较 SAMP8 诸组均更快,且差异有统计学意义,而 SAMP8 诸组间差异无统计学意义,说明 8 月龄 SAMP8 鼠在运动速度、运动能力上比同龄 SAMR1 鼠要更差,这可能对动物空间学习记忆会产生一定的影响。可视平台试验提示:8 月龄 SAMP8 小鼠运动速度、运动能力和逃避危险水域的动机对空间学习记忆有重要的影响。

2.2.5 空间搜索策略 空间搜索策略分析也能反映小鼠思考、分析和判断的差别,定性地支持水迷宫参数的结论。典型的搜索策略是小鼠的逃避潜伏期时间接近当日的平均值。水迷宫中,游泳轨迹被当作小鼠的搜索策略。在第 1 天,所有组小鼠采用边缘式和随机式碰触平台,游泳的轨迹要么沿池边的大圈,或者随机地横过某一象限。在第 3 或第 5 天, SAMR1 组更多地通过直线式, SAMP8 对照组通常通过边缘式和随机式碰触平台,更多针刺组的小鼠通过趋向式和直线式找到平台,而针刺非穴组更多地采用边缘式和随机式;故通过持续的针灸和水迷宫的训练,使三个针刺组均能更快地搜索到目标,搜索策略趋向于 SAMR1,也体现穴位的

表 2 各组小鼠在水迷宫中平均逃避潜伏期时间

组别	训练天数	SAMR1 对 照 组 (n = 12)	SAMP8 对 照 组 (n = 10)	针刺腹穴组 (n = 10)	针刺背俞穴组 (n = 11)	针刺腹背穴组 (n = 11)	针刺非穴组 (n = 10)
隐蔽平台							
	第 1 天	70.6 ± 14.8	81.9 ± 12.2	80.3 ± 15.52	79.4 ± 16.1	76.9 ± 14.4	81.3 ± 13.3
	第 2 天	54.6 ± 15.9	74.2 ± 16.8	61.5 ± 14.3	52.4 ± 24.2 ^b	58.6 ± 21.9 ^c	75.6 ± 17.1 ^e
	第 3 天	35.1 ± 11.9 ^{bd}	75.4 ± 18.6 ^f	54.0 ± 21.6 ^{ace}	54.2 ± 24.6 ^{ace}	48.8 ± 19.8 ^{bd}	75.7 ± 21.7 ^f
	第 4 天	37.4 ± 17.6 ^{bd}	74.6 ± 15.9 ^f	54.4 ± 25.3 ^{ac}	64.5 ± 24.5 ^f	52.2 ± 28.1 ^{ac}	75.3 ± 15.7 ^f
	第 5 天	36.2 ± 17.2 ^{bd}	74.5 ± 15.4 ^f	56.4 ± 23.0 ^{ace}	57.9 ± 22.5 ^e	52.5 ± 22.3 ^{ac}	75.1 ± 17.7 ^f
探索试验							
	第 6 天	20.8 ± 3.7 ^{bd}	13.6 ± 3.6 ^f	20.3 ± 4.2 ^{bdg}	17.1 ± 3.4 ^{ace}	20.5 ± 3.7 ^{bdg}	13.8 ± 2.7 ^f
反向平台							
	第 7 天	63.3 ± 18.5	78.2 ± 16.0	65.5 ± 25.7	70.8 ± 20.0	73.3 ± 17.1	76.8 ± 20.5
	第 8 天	43.3 ± 21.4 ^{bd}	72.1 ± 22.3 ^f	49.4 ± 23.5 ^{ac}	61.1 ± 23.8	55.0 ± 25.1	70.4 ± 21.3 ^f
	第 9 天	40.5 ± 16.8 ^{bd}	71.3 ± 25.3 ^f	51.3 ± 23.2 ^{ac}	52.8 ± 21.8	50.0 ± 18.1 ^{ac}	74.8 ± 21.6 ^f
可视平台							
	第 10 天	32.5 ± 14.1	52.0 ± 13.0 ^e	42.0 ± 18.2	48.8 ± 22.3 ^e	44.0 ± 15.2	49.8 ± 24.3 ^e

注:第 6 天数据为在原象限的停留时间,而其他天的数据为逃避潜伏期时间。与 SAMP8 对照组比较,^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01; 与针刺非穴组比较,^c*P* < 0.05, ^d*P* < 0.01; 与 SAMR1 对照组比较,^e*P* < 0.05, ^f*P* < 0.01; 与针刺背俞穴组比较,^g*P* < 0.05。

相对特异性。在探索试验中,在 SAMR1 对照组和三个针刺组的小鼠采用在每一象限的中心来回地寻找平台,而 SAMP8 对照组和针刺非穴组小鼠则表现沿池壁游走的搜索平台。提示三种针刺方法能够改善 SAMP8 边缘模式到随机模式或到直线模式,因而提高了 SAMP8 鼠的分析和判断能力,改善了搜索策略。

3 讨论

8 月龄 SAMP8 存在明显的全面老化现象,但目前尚无针刺对 SAMP8 老化评分影响的研究,本研究首次显示基于“益气调血,扶本培元”基本治则的腹侧配穴、背俞穴配穴及腹背配穴的三种针刺方法均能明显降低 SAMP8 的老化评分,提示三种针法均能改善 SAMP8 小鼠的老化度,说明有改善衰老认知的功能;但针刺腹穴组与针刺腹背穴组自身前后比较降低有统计学意义,而针刺背俞穴组的降低无统计学意义,提示在改善老化认知功能上,针刺腹穴组和针刺腹背穴组更具疗效优势。

当前,尚无“益气调血、扶本培元”治则不同针刺取穴方法对 SAMP8 小鼠认知功能影响的研究报告。Morris 水迷宫隐蔽平台主要反映学习的能力,而反向平台试验反映再学习的能力,结果均说明针

灸治疗与水迷宫训练天数的增加可显著性地提高小鼠学习成绩,说明三种针刺方法均有改善认知障碍的功能,但三种不同针刺干预方法的作用呈现显著性差异,体现其针法的疗效差异;SAMP8 小鼠(对照组)学习时间比 SAMR1 小鼠要长,并且平均逃避潜伏期时间下降缓慢,在多天的学习、记忆的治疗训练中体现其学习与再学习能力差,即是认知功能障碍。在学习能力上,SAMP8 小鼠针刺背俞穴治疗及训练呈现学习成绩改善最快但不稳定特点,而针刺腹穴治疗及针刺腹背穴治疗训练的学习成绩改善较稳定的特点;在再学习方面,SAMP8 针刺腹穴方法起效最快,并显著性地优于另二种针法。探索试验主要反映动物记忆保持能力,结果提示 SAMP8 小鼠在记忆保持能力方面也有损害,三种针刺方法均能增加在原平台象限的停留时间和在穿越原平台的频次,均能显著地改善这种记忆保持能力的认知损害,疗效有穴位特异性。可视平台试验反映出 SAMP8 存在运动速度、能力以及逃避水域的动机降低的特点,而实验不同针刺方法治疗作用及成绩提高均体现能一定程度增强 SAMP8 小鼠逃避水域的动机,并在定性体现出逃避动机的搜索策略上相应的改善。本实验综合分析特点有:三种针法均有改善 SAMP8 小鼠衰老的作用,但程度有差异;均能较

全面改善 SAMP8 小鼠认知功能,但改善的方面与程度各具特点。综合考虑三种不同针法在作用于老化度评分及水迷宫实验结果,本实验支持优选原有“益气调血、扶本培元”针法。

如果结合三种不同针法用穴特点分析,可能对三种针法实验结果及筛选有一定的启示作用。(1)背俞穴是脏腑之气输注于背腰部的腧穴,背俞穴组方也是基于“从三焦气化失司论治痴呆”及“益气调血、扶本培元”基本治则,配穴组方侧重从背侧调理上中下三焦的肺脾肾三脏及三脏气化。而实验说明背俞穴针刺有一定的改善 SAMP8 认知功能,但“益气调血、扶本培元”针法更具优势,这可能与腹前针法为上中下“三海”穴有密切有关,人体“四海”统御着脏腑、经络气血的整体功能,整体调理全身气血水津液精的生化及代谢,能更好地体现并实现三焦气化的功能。(2)“益气调血、扶本培元”针法与其配合背俞穴针刺方法之间疗效没有显著性差异,腹部穴配取背俞穴也未显示的叠加疗效,而在反向平台试验中,“益气调血、扶本培元”针法起效更快,疗效稳定,相对有一定的疗效优势,且从取穴多寡考虑,取穴少者更有利于“治神”,目前动物实验的结果支持优选“益气调血、扶本培元”针法。

实验结论为:三种不同针法都能抵抗 SAMP8 快速老化进程和降低老化度评分,也均能改善 SAMP8 认知功能障碍,而改善特点不同;综合起来,动物实验支持原有“益气调血、扶本培元”针法。

参 考 文 献

- [1] 李忠仁.《实验针灸学》[M].北京:中国中医药出版社,2003: 327-329.
- [2] Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat[J]. Neurosci Methods, 1984, 11(1): 47-50.
- [3] Pouzet B, Zhang WN, Feldon J, et al. Hippocampal lesioned rats are able to learn a spatial position using non-spatial strategies [J]. Behav Brain Res, 2002, 133(2): 279-91.
- [4] Veng LM, Granholm A-C, Rose GM. Age-related sex differences in spatial learning and basal forebrain Cholinergic neurons in F344 rats[J]. Physiol Behav, 2003, 80(1): 27-36.
- [5] Liu CZ, Yu JC, Cheng HY, et al. Spatial memory performance and hippocampal neuron number in osteoporotic SAMP6 mice [J]. Exp Neurol, 2006, 201(2): 452-460.
- [6] Yu J, Liu C, Zhang X, Han J. Acupuncture improved cognitive impairment caused by multi-infarct dementia in rats [J]. Physiol Behav 2005, 86(4): 434-441.
- [7] Finney DJ. Pepeated measurements: What is measured and what repeats? [J]. Statistics in Medicine, 1990, 9(6): 639-644.
- [8] Gallagher M, Burwell R, Burchinal M. Severity of spatial learning impairment in Aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze [J]. Behav Neurosci, 1993, 107(4): 618-626.
- [9] Toshio Takeda. Senescence-Accelerated Mouse (SAM) with Special References to Neurodegeneration Models, SAMP8 and SAMP10 Mice [J]. Neurochem Res, 2009, 34(4): 639-659.

(收稿日期:2012-12-25)

(本文编辑:黄凡)

· 信息之窗 ·

本刊对标注作者单位和作者简介的有关要求

作者姓名全部列出,置于题名下方。所有作者单位须写全称(包括具体科室、部门)并注明省份、城市和邮政编码。投稿时要确定一名对文稿负责的通讯作者。如来稿没有特别注明,则视第一作者为通讯作者。来稿请注明第一作者和通讯作者姓名、性别、出生年、最高学位、职称、主要研究方向、联系电话、E-mail 地址。论著、综述类文稿均须附英文题名、前三名作者姓名汉语拼音,以及第一作者单位名称的英译。如作者中有在读研究生,请注明入学年份。

本刊对来稿中缩略语的有关要求

在摘要及正文中首次出现缩略语时应注明全称。缩略语应尽量少用,以免影响阅读的流畅性,不超过 4 个汉字的名词不使用缩略语。已被公知公认的缩略语可以直接使用,如 DNA、RNA、HBsAg、PCR 等。尚未被公知公认的缩略语以及原词过长、在文中多次出现者,若为中文可于文中第一次出现时写出全称,在圆括号内写出缩略语;若为外文可于文中第一次出现时写出中文全称,在圆括号内写出外文全称及其缩略语。例如:流行性脑脊髓膜炎(流脑),阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome, OSAS)。全文缩略语以 5 个以下为宜。