

# X染色体上脆性X智力低下基因1敲除模型小鼠针刺长强穴学习记忆及海马CA1区 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基表达的影响

吴强<sup>1</sup>, 陈丽云<sup>2</sup>, 张学君<sup>1</sup>(<sup>1</sup>福建中医药大学针灸学院, 福建省福州市 350122; <sup>2</sup>福州市中医院, 福建省福州市 350001)

## 文章亮点:

实验在原有研究基础上发现针刺长强穴提高X染色体上脆性X智力低下基因1敲除小鼠学习记忆能力的进一步作用点为 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基,且在动物模型中证实针刺长强穴在提高学习记忆能力方面具有起效快的特点。

## 关键词:

实验动物模型; 脑及脊髓损伤动物模型; 长强穴; 脆性X综合征; 针刺; 学习记忆能力;  $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基; 国家自然科学基金

## 主题词:

脆性X综合征; 脆性X智力低下蛋白质; 针刺穴位; 小鼠, 转基因; 组织工程

## 基金资助:

国家自然科学基金项目(81373720); 福建省科技厅社发处重点项目(2012Y0045)

## 缩略语:

X染色体上脆性X智力低下基因1: fragile X mental retardation 1, FMR1

吴强, 2003年广州中医药大学毕业, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事儿童脑病(脑瘫、智障、自闭)基础与临床方面的研究。

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2015)49-07964-05

稿件接受:2015-09-18

http://www.crter.org

## 摘要

**背景:** X染色体上脆性X智力低下基因1敲除小鼠海马区 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基表达低于野生型小鼠。  
**目的:** 观察针刺长强穴对X染色体上脆性X智力低下基因1敲除小鼠学习记忆及海马CA1区 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基表达的影响。

**方法:** 采用X染色体上脆性X智力低下基因1敲除纯合子小鼠雌雄各5只,一雌一雄合笼饲养。所繁殖幼鼠经基因型鉴定为X染色体上脆性X智力低下基因1敲除纯合子小鼠者,随机分为模型组、长强组、非穴组,各10只,另取野生型小鼠10只作为空白组。长强组小鼠采用平补平泻,行提插手法针刺长强穴1 min,频率160-200次/min,1次/d,连续治疗10 d;非穴组刺激小鼠右肋弓最低点上1 cm处;模型组及空白组每日只进行模拟抓取。

**结果与结论:** 与空白组相比,模型组小鼠水迷宫逃避潜伏期明显延长( $P < 0.05$ );而与模型组相比,长强组小鼠水迷宫逃避潜伏期明显缩短( $P < 0.05$ ),海马CA1区 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基表达率增加( $P < 0.05$ );而非穴组小鼠水迷宫逃避潜伏期及海马CA1区 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基表达率与模型组接近( $P > 0.05$ )。且针刺X染色体上脆性X智力低下基因1敲除小鼠长强穴后其海马CA1区 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基阳性细胞率与逃避潜伏期呈负相关( $r = -0.554, P = 0.001$ )。提示针刺长强穴可改善X染色体上脆性X智力低下基因1敲除小鼠的学习记忆能力,上调 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基在海马CA1区的表达。

吴强, 陈丽云, 张学君. X染色体上脆性X智力低下基因1敲除模型小鼠针刺长强穴学习记忆及海马CA1区 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基表达的影响[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(49):7964-7968.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.49.016

## Effects of acupuncturing *Changqiang* acupoint on the learning and memory function and gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha1 subunit expression in the hippocampal CA1 region of the fragile X mental retardation 1 located on X chromosome knockout mice

Wu Qiang<sup>1</sup>, Chen Li-yun<sup>2</sup>, Zhang Xue-jun<sup>1</sup> (<sup>1</sup>College of Acupuncture and Massage, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, Fujian Province, China; <sup>2</sup>Chinese Medicine Hospital of Fuzhou, Fuzhou 350001, Fujian Province, China)

## Abstract

**BACKGROUND:**  $\gamma$ -Aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression was lower in the hippocampus of mice of fragile X mental retardation 1 (FMR1) gene located on the X chromosome knockout than in wild-type mice.

**OBJECTIVE:** To study the effect of acupuncturing *Changqiang* (DU1) point on the learning and memory function and  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression in the hippocampal CA1 region of the FMR1 located on X chromosome knockout mice.

**METHODS:** There were five male and five female homozygous mice of FMR1 located on X chromosome knockout.

Wu Qiang, M.D., Professor, Doctoral supervisor, College of Acupuncture and Massage, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, Fujian Province, China

Accepted: 2015-09-18

One female and one male were housed in a cage. Their offspring that was identified as homozygous mice of FMR1 located on X chromosome knockout were randomly divided into model group, *Changqiang* group, and non-acupuncture group ( $n=10$ ). An additional 10 wild-type mice were considered as blank group. Mice in the *Changqiang* group received acupuncture at *Changqiang* acupoint for 1 minute by mild reinforcing and attenuating method, and lifting and inserting method, at the frequency of 160–200 times/minute, once a day, for 10 consecutive days. Mice in the non-acupuncture group were acupunctured at 1 cm above the lowest point of mouse right costal arch. Mice in the model and blank groups only received analog crawl.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Compared with the blank group, the escape latency in the water maze was significantly prolonged in the model group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the escape latency in the water maze was significantly shorter in the *Changqiang* group ( $P < 0.05$ ), and the  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression in the hippocampal CA1 region was increased ( $P < 0.05$ ). The escape latency in the water maze and  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression in the hippocampal CA1 region were similar between the non-acupuncture and model groups ( $P > 0.05$ ). Moreover,  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression in the hippocampal CA1 region was negatively associated with the escape latency after acupuncturing the *Changqiang* acupoint ( $r=-0.554$ ,  $P=0.001$ ). Data suggested that acupuncture at *Changqiang* acupoint improved the learning and memory capabilities of mice with the FMR1 located on X chromosome knockout, and up-regulated  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression in the hippocampal CA1 region.

**Subject headings:** Fragile X Syndrome; Fragile X Mental Retardation Protein; Acupuncture Points; Mice, Transgenic; Tissue Engineering

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, No. 81373720; the Key Project of Social Development Division of Fujian Provincial Science and Technology Department, No. 2012Y0045

Wu Q, Chen LY, Zhang XJ. Effects of acupuncturing *Changqiang* acupoint on the learning and memory function and gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha1 subunit expression in the hippocampal CA1 region of the fragile X mental retardation 1 located on X chromosome knockout mice. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015;19(49): 7964-7968.

## 0 引言 Introduction

脆性X综合征的发病与X染色体上脆性X智力低下基因1(fragile X mental retardation 1, FMR1)突变密切相关<sup>[1]</sup>。FMR1突变可以导致脆性X智力低下蛋白的表达减少或缺失<sup>[2]</sup>。脆性X智力低下蛋白的缺失所导致的神经突触发育异常,是脆性X综合征患者出现智力低下、焦虑及易激惹现象的重要原因<sup>[3]</sup>。因此,调节突触可塑性成为治疗脆性X综合征的重要切入点。研究发现激活脑源性神经营养因子-TrkB-细胞外信号调节蛋白激酶1/2通路能促进微管相关蛋白1B的表达<sup>[4]</sup>,而微管相关蛋白1B具有调节细胞骨架形成,介导轴突、树突与突触生长的功能<sup>[5]</sup>。然而,目前脆性X综合征尚无治愈方式,主要为针对临床症状的对症治疗<sup>[6]</sup>。

针刺长强穴对脆性X综合征具有肯定的疗效<sup>[7]</sup>,关于其治疗机制的研究持续进行中<sup>[8]</sup>。前期研究已发现针刺长强穴可上调FMR1基因敲除小鼠海马CA1区脑源性神经营养因子、细胞外信号调节蛋白激酶及微管相关蛋白1B的表达<sup>[9]</sup>。 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体可激活脑源性神经营养因子-TrkB-细胞外信号调节蛋白激酶1/2通路,增加此通路中脑源性神经营养因子、细胞外信号调节蛋白激酶的表达<sup>[10]</sup>。同时,有研究发现在FMR1基因敲除小鼠海马中 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基的表达明显低于野生型小鼠<sup>[11]</sup>。因此,本实验利用FMR1基因敲除小鼠,观察针刺长强穴后小鼠学习记忆能力及海马CA1区 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基表达的影响,进一步分析针刺长强穴改变突触可塑性的可能途径。为研究针刺长强穴改善脆性X综合征的治疗机制提供依据。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2012年6月至2013年10月在福建中医药大学动物实验中心SPF1实验室及福建中医药大学中西医结合研究院完成。

1.3 材料

FMR1敲除小鼠针刺长强穴实验用主要试剂与仪器:

试剂及仪器	来源
DNA提取试剂盒	上海生工生物工程有限公司
一抗 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基	北京博奥森生物技术有限公司
DAB显色试剂盒	福州迈新生物技术开发有限公司
华佗牌一次性针灸针(规格: 0.35 mm $\times$ 13 mm)脑立体定位仪	苏州医疗用品厂有限公司 深圳瑞沃德生命科技有限公司
PCR反应扩增仪、凝胶成像系统	加拿大 BBI公司
3730测序列分析仪	美国 ABI 公司
DK-8D型电热恒温水槽	上海森信实验仪器有限公司
水平电泳仪、GS-6R Centrifuge 冷冻离心机	美国Beckman公司
H6-1微型电泳槽	上海精益有机玻璃制品仪器厂
SMG-2型Morris水迷宫系统	中国医学科学院药物研究所
生物组织脱水机ZT-14S	湖北孝感市亚光医用电子技术有限公司
石蜡切片机	德国莱卡公司
洁净工作台	上海博迅实业有限公司医疗设备厂
系统显微镜BH2	日本Olympus 公司
Motic Med 6.0图像分析系统	麦克奥迪实业集团有限公司
脑立体定位仪	深圳瑞沃德生命科技有限公司

**动物:** 5对性成熟FMR1基因敲除纯合子(-/-)近交系小鼠为荷兰伊拉斯塔大学细胞生物学及遗传学研究中心 Oostra BA教授、美国贝勒医学院人类遗传学及分子生物学研究部门David L. Nelson博士惠赠; 由福建中医药大学动物实验中心繁殖与饲养。10只SPF级C57BL/6野生型小鼠(雌雄各半)由上海上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 合格证编号: 2007000550425。温度: (22±1) °C, 湿度: 50%, 12 h明暗循环, 自由饮食和饮水。

#### 1.4 方法

**1.4.1 FMR1基因敲除纯合子小鼠及野生型小鼠的分组** 5对性成熟FMR1基因敲除纯合子(-/-)近交系小鼠采用一雌一雄同笼饲养, 所产幼鼠于19 d龄时采血并行基因型鉴定。选取基因鉴定结果显示为FMR1基因敲除纯合子小鼠随机分组。其中, 模型组为4只雌鼠, 6只雄鼠, 非穴组为6只雌鼠、4只雄鼠, 长强组为4只雌鼠、6只雄鼠。而以10只C57BL/6野生型小鼠作为空白组。

**1.4.2 针刺长强穴治疗** 脆性X综合征当属于中医“五迟”“呆病”、“胎怯”的范畴, 病位在脑。中医理论认为其发病与督脉关系密切。《素问·骨空论》曰: “督脉者……上额头交巅上, 入络脑。”督脉为脏腑精微输入入脑的重要通道<sup>[12]</sup>, 督脉穴位常作为治疗智力低下等疾病的关键取穴<sup>[13]</sup>。长强穴作为督脉的起始穴与络穴, 很早就用于治疗此类疾病<sup>[14]</sup>。《灵枢·癫狂》曰: “治癫疾者, 常与之居……灸穷骨二十壮, 穷骨者, 骶骨也。”因此, 此穴应在治疗精神发育方面具有一定优势。

长强组小鼠于28 d龄开始干预。选用0.5寸毫针, 体积分数75%乙醇棉球对进针部位进行消毒, 操作者左手拇指捏小鼠尾部, 中指与无名指跨于小鼠身体两侧, 右手持针采取单手直接进针, 长强穴(DU1, 位于尾根与肛门之间凹陷处), 进针深度约0.3寸, 采用平补平泄, 行提插法, 持续行针1 min, 频率160–200次/min。非穴组针刺小鼠右侧肋弓最低点上1 cm处。模型组与空白组小鼠每日在相同条件下实验只进行抓取。每日9: 00开始干预, 持续10 d。

**1.4.3 Morris水迷宫测试** 小鼠于针刺前5 d及针刺结束后第1天行Morris水迷宫测试。水温保持在22.0–23.0 °C、实验室的光线、水池周围参照物、实验平台及实验人员所站位置保持不变。每次测试持续5 d。将系统单次实验时间设为90 s, 目标区域时间定为10 s。实验者将小鼠从第一象限开始依次放入水中, 同时按下电脑界面的开始键。系统自动记录小鼠的游泳路径图及找到平台的时间(即逃避潜伏期)。若在90 s内找不到平台, 系统自动停止实验。实验人员将小鼠放于平台上10 s, 放回笼中休息1 min再进行下一象限的实验。前4 d的实验, 每天向后推一个象限为开始象限。如第1天从第一象限开始, 第2天就从第二象限开始, 依此类推。空间探索实验在第5天进行, 实验者撤除平台, 将第一象限作为小鼠的入水点, 测试时间为90 s, 目标区域时间为10 s, 仅需进行一个象限的测试。

**1.4.4 取材** 针刺开始后第15天, 小鼠以体积分数10%水合氯醛剂量麻醉后采用心尖灌注40 g/L多聚甲醛PBS固定后快速断头取脑。将完整脑组织置于40 g/L多聚甲醛PBS中固定24 h。按照小鼠脑立体定位图谱<sup>[15]</sup>, 将脑组织置于脑立体定位仪中, 切取对耳线后0.94–3.88 mm一段。脑组织在体积分数70%–100%乙醇及二甲苯中梯度脱水后置入石蜡中蜡化。包埋。

**1.4.5 免疫组化检测** 将石蜡组织块以5 μm厚度切片, 干燥, 二甲苯、梯度乙醇及蒸馏水脱蜡与水化; 切片置于枸橼酸钠液中, 微波炉加热至沸腾, 滴加内源过氧化物酶阻断剂, 室温下湿盒中孵育10 min; PBS浸洗; 切片滴加山羊血清封闭液, 室温下湿盒中封闭10 min; 滴加一抗(γ-氨基丁酸A型受体α1亚基), 湿盒中4 °C过夜; 室温中复温1 h, PBS浸洗, 滴加二抗(生物素标记的羊抗小鼠/兔IgG聚合物), 湿盒中室温孵育10 min; PBS浸洗; 滴加链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶, 湿盒中室温孵育10 min; PBS浸洗; 滴加事先配制好的DAB显色剂进行显色后, 水洗; 苏木精染色10 s; 水洗3遍; 脱水、树脂封固, 并在显微镜下观察。选取小鼠海马CA1区5个不重复视野, 视野中出现的棕黄色颗粒为阳性细胞。每个视野中阳性细胞数与神经元细胞总数的比率为阳性细胞率。

**1.5 主要观察指标** 各组小鼠海马CA1区中γ-氨基丁酸A型受体α1亚基的表达及Morris水迷宫的逃避潜伏期。

**1.6 统计学分析** 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用SPSS 18.0统计软件对数据进行分析, 用单因素方差分析。P < 0.05为差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 模型组、长强组及空白组各有10只小鼠进行水迷宫测试及免疫组化测定, 而非穴组有10只小鼠均进行水迷宫测试, 但由于操作问题仅有9只小鼠进行免疫组化检测。

**2.2 针刺长强穴对FMR1基因敲除小鼠学习记忆的影响与空白组相比,** 模型组小鼠水迷宫逃避潜伏期明显延长(P < 0.05), 而与模型组相比, 长强组小鼠经针刺后水迷宫逃避潜伏期显著缩短(P < 0.05), 而非穴组小鼠水迷宫逃避潜伏期与模型组差异无显著性意义(P > 0.05)。与模型组及非穴组相比, 长强组小鼠自水迷宫测试第2天开始逃避潜伏期显著缩短(P < 0.05), 见表1, 2。

**2.3 针刺长强穴对FMR1基因敲除小鼠海马CA1区γ-氨基丁酸A型受体α1亚基表达的影响** 与模型组相比, 空白组小鼠海马CA1区γ-氨基丁酸A型受体α1亚基表达阳性细胞率明显较高(P < 0.05), 而与模型组相比, 长强组、非穴组经过针刺后海马CA1区γ-氨基丁酸A型受体α1亚基表达阳性细胞率明显增加(P < 0.05), 而与空白组相比, 长强组、非穴组经过针刺后海马CA1区γ-氨基丁酸A型受体α1亚基表达阳性细胞率仍较低(P < 0.05), 见图1, 表3。

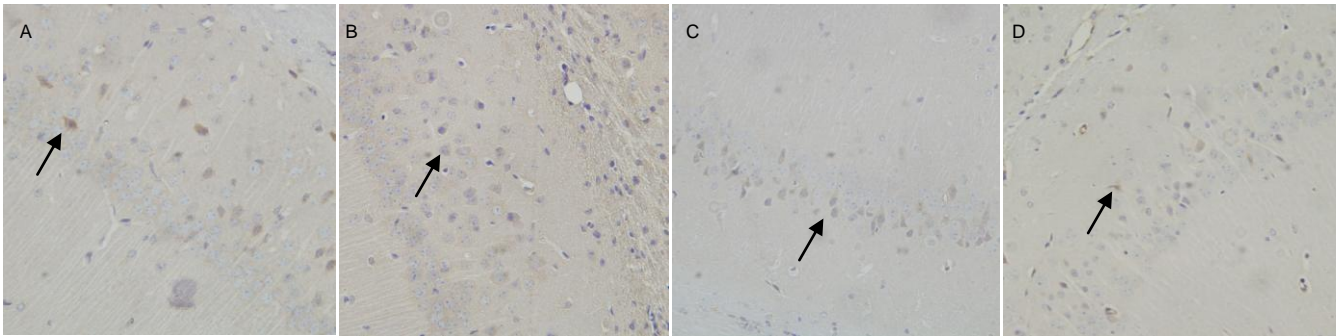


图 1 针刺长强穴对 FMR1 基因敲除小鼠海马 CA1 区  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基表达的影响

Figure 1 Effects of acupuncturing *Changqiang* acupoint on  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression in the hippocampal CA1 region of fragile X mental retardation 1 knockout mice

图注: 图中 A 为空白组, 小鼠海马组织中出现大量  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基表达; B 为模型组小鼠海马组织中  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基表达明显减少; C 为长强组, 小鼠海马组织中  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基表达恢复; D 为非穴组, 小鼠海马组织中  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基表达增加, 但仍低于空白组。箭头指示阳性表达。

表 1 针刺长强穴对 FMR1 基因敲除小鼠水迷宫逃避潜伏期的影响  
( $\bar{x} \pm s, n=10, s$ )

Table 1 Effects of acupuncturing *Changqiang* acupoint on the escape latencies in the water maze in the fragile X mental retardation 1 knockout mice

组别	干预前	干预后
模型组	74.60±10.11 <sup>a</sup>	53.25±9.32 <sup>b</sup>
长强组	76.54±7.42 <sup>a</sup>	37.52±9.68
非穴组	74.56±11.02 <sup>a</sup>	46.38±6.02 <sup>b</sup>
空白组	58.90±12.16	29.78±12.60

表注: 与空白组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与长强组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 针刺长强穴对 FMR1 基因敲除小鼠海马 CA1 区  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基表达阳性细胞率的影响  
( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Table 3 Effects of acupuncturing *Changqiang* acupoint on positive cell rate of  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression in the hippocampal CA1 region of fragile X mental retardation 1 knockout mice

组别	<i>n</i>	阳性细胞比率
模型组	10	8.25±4.78 <sup>a</sup>
长强组	10	33.04±11.55 <sup>ab</sup>
非穴组	10	14.87±8.26 <sup>ab</sup>
空白组	9	33.32±15.27

表注: 与空白组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

2.4 针刺 FMR1 基因敲除小鼠长强穴后其海马 CA1 区  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基阳性细胞率与逃避潜伏期的关系  
小鼠海马 CA1 区  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基阳性细胞率与逃避潜伏期呈明显负相关( $r = -0.554, P = 0.001$ ; 图 2)。

### 3 讨论 Discussion

前期临床研究发现, 长强穴相对常规头针配穴在治疗精神发育迟滞方面具有起效快的特点, 患儿多在治疗后的一周即可出现粗大运动的明显改变<sup>[16]</sup>。本次实验通过对 4 组干预后平均每日逃避潜伏期对比发现长强组至测试第二日起即出现逃避潜伏期的明显下降, 在动物模型上验证了

表 2 FMR1 基因敲除小鼠针刺长强穴后每天的水迷宫逃避潜伏期  
( $\bar{x} \pm s, n=10, s$ )

Table 2 Daily escape latencies in the water maze in fragile X mental retardation 1 knockout mice after acupuncturing *Changqiang* acupoint

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
模型组	55.36±16.99	47.50±17.41 <sup>a</sup>	43.62±15.5	45.86±18.18
长强组	51.82±15.02	39.79±19.99	26.52±11.39	27.54±7.52
非穴组	51.38±18.87	46.22±20.79 <sup>a</sup>	41.06±19.63	38.95±20.95
空白组	28.69±15.84	33.85±14.44	30.47±14.51	27.19±18.39

表注: 与长强组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

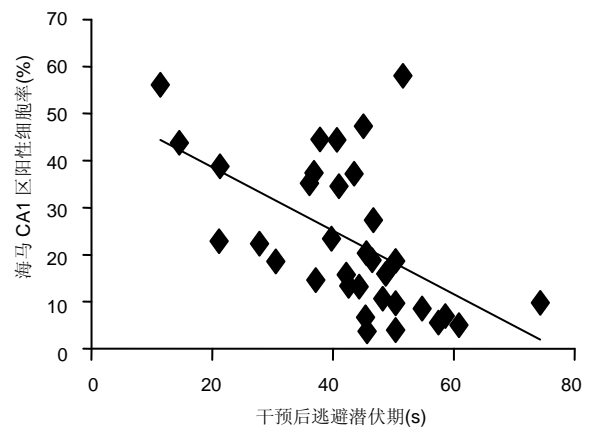


图 2 针刺长强穴后 FMR1 基因敲除小鼠逃避潜伏期与海马 CA1 区  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基表达的相关性

Figure 2 Correlation of escape latency and  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor  $\alpha 1$  subunit expression in the hippocampal CA1 region of fragile X mental retardation 1 knockout mice after acupuncturing *Changqiang* acupoint

图注: 小鼠海马 CA1 区  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体  $\alpha 1$  亚基阳性细胞率与逃避潜伏期呈明显负相关( $r = -0.554, P = 0.001$ )。

长强穴具有起效快这一临床特点。采用单穴治疗, 既减轻病人痛苦又具有起效快、作用持久的治疗特点在临床运用上具有重要意义。

有研究发现脑内  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体激活后引起氯

离子向细胞外流动,从而引发动作电位<sup>[17]</sup>。同时有研究表明针灸对突触发育的调节作用与其所引发中枢神经元动作电位有密切联系,中枢神经元的动作电位可引起神经营养因子的合成、释放及其受体的表达<sup>[18]</sup>。团队前期研究已观察到针刺长强穴可通过增加细胞外信号传导通路上的脑源性神经营养因子等在海马中的表达,对突触可塑性产生正性调节<sup>[9]</sup>。而针刺长强穴后海马内 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体表达增加。证实针刺可能是通过增加 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体的表达,从而引发中枢神经元动作电位,再启动对脑源性神经营养因子等神经营养因子的表达及受体通路的激活。提示 $\gamma$ -氨基丁酸A型-脑源性神经营养因子通路在针灸改善突触可塑性的机制研究中具有重要的意义。

从干预前逃避潜伏期实验结果看FMR1基因敲除小鼠的学习记忆能力较正常野生型小鼠差,这与孙伟文等<sup>[19]</sup>的实验结果相符合。可见FMR1基因敲除小鼠与脆性X综合征患者相似均表现出学习记忆能力低下等现象<sup>[20]</sup>。目前认为,二者出现相似症状与脆性X智力低下蛋白表达的减少或缺失导致突触发育异常、迟缓有密切联系。而此次研究发现针刺长强穴后脑内 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体 $\alpha 1$ 亚基表达增加,并结合前期关于突触可塑性的相关研究可见,针刺虽不能直接作用于突变的基因位点,但能通过影响与突触可塑性相关的其他通路产生代偿性的作用。但脆性X综合征患者脑内 $\gamma$ -氨基丁酸A型受体的表达是否与此类同?值得进一步研究。

**作者贡献:** 吴强进行实验设计,陈丽云进行动物实验操作及数据统计,张学君资料收集,吴强成文。

**利益冲突:** 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

**伦理问题:** 实验过程中对实验动物的处置符合动物伦理学标准,实验经福建中医药大学动物伦理学委员会批准。

**文章查重:** 文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 本刊实行双盲外审制度,文章经国内小同行外审专家审核,符合本刊发稿宗旨。

**学术术语:** 脆性X综合征-属X连锁显性遗传病,为X染色体Xq27-Xq28带之间呈细丝样,导致其相连的末端呈随体样结构,且这一细丝样部位易发生断裂,其发生率占X连锁智能发育不全患者的1/2-1/3,在一般男性群体中,其检出率为1.8/1 000,其发生率仅次于先天愚型(唐氏综合征)。

**作者声明:** 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

#### 4 参考文献 References

- [1] Levenga J, de Vrij FM, Oostra BA, et al. Potential therapeutic interventions for fragile X syndrome. Trends Mol Med. 2010; 16(11):516-527.
- [2] Pieretti M, Zhang FP, Fu YH, et al. Absence of expression of the FMR-1 gene in fragile X syndrome. Cell. 1991;66(4): 817-822.
- [3] Iliff AJ, Renoux AJ, Krans A, et al. Impaired activity-dependent FMRP translation and enhanced mGluR-dependent LTD in Fragile X premutation mice. Hum Mol Genet. 2013;22(6): 1180-1192.
- [4] Kimura I, Nakayama Y, Zhao Y, et al. Neurotrophic effects of neudesin in the central nervous system. Front Neurosci. 2013;7:111.
- [5] Budnik V, Salinas PC. Wnt signaling during synaptic development and plasticity. Curr Opin Neurobiol. 2011;21(1): 151-159.
- [6] 朱丽娜,王春枝.脆性X综合征发病机制与治疗研究进展[J].中国优生与遗传杂志,2010,18(12):3-4.
- [7] 吴强,韩平,王振宇,等.针刺长强穴治疗精神发育迟滞患儿57例多中心临床研究报告[J].中华中医药杂志,2011,26(11):2668-2671.
- [8] 韩平,王振宇,林栋,等.浅谈针刺长强穴改善儿童智力残疾[J].中华中医药杂志,2011,26(5):1239-1240.
- [9] 韩平,俞萍,陈可爱,等.针刺长强穴对FMR1基因敲除小鼠海马CA1区BDNF和SYN表达的影响[J].福建中医药大学学报,2012, 22(5):14-18.
- [10] 许静,尹晓慧,张光毅.GABAA受体激活BDNF-TrkB-ERK信号通路在脑缺血中的作用[J].徐州医学院学报,2011,31(7):441-444.
- [11] D'Hulst C, Kooy RF. The GABAA receptor: a novel target for treatment of fragile X? Trends Neurosci. 2007;30(8):425-431.
- [12] 周丽,张允岭,孟繁兴.针灸治疗血管性轻度认知障碍研究思路[J].山东中医药大学学报,2012,36(1):29-30.
- [13] 王金桥,王金玲.轻度认知障碍与肺及督脉的关系[J].山东中医药大学学报,2012,33(1):113.
- [14] 刘立公,顾杰,刘婕,等.古代文献中督脉及其腧穴主治的统计报告[J].针灸临床杂志,2010,26(5):43-45.
- [15] Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5th ed. London: Academic Press,2005.
- [16] 宋妍.针刺长强穴改善小儿生物因素智力低下的优势[D].福州:福建中医学院,2009.
- [17] 赵三军,朱亚静,米卫东. $\gamma$ -氨基丁酸受体和神经发生[J].国际麻醉学与复苏杂志,2012,33(7):474-476.
- [18] 杜静.神经营养因子和细胞因子在介导针灸效应中的作用[J].针刺研究,2008,33(1):37-40.
- [19] 孙卫文,黄越玲,张维雯,等.三十日龄FMR1基因敲除小鼠的水迷宫实验观察[J].解剖学研究,2011,33(1):13-16.
- [20] 徐琴,竺智伟,赵正言.脆性X综合征树突棘形态发育研究进展[J].神经解剖学杂志, 2009,23(5):387-389.