

## · 基础研究 ·

## 电针结合有氧运动对自然衰老大鼠骨骼肌 IGF-I/Akt 通路的作用

温佩彤<sup>1</sup>, 徐平<sup>2</sup>, 虎力<sup>2</sup>, 张伟波<sup>3</sup>, 高原<sup>4</sup>

(1.上海中医药大学附属光华医院,上海 200052;2.上海中医药大学针灸推拿学院,上海 201203;3.浙江省立同德医院针灸推拿科,浙江 杭州 310012;4.浙江康复医疗中心中医康复诊疗中心,浙江 杭州 310053)

**【摘要】**目的:探索低频电针结合有氧运动对增龄性骨骼肌萎缩的效应,以及 IGF-I/Akt 及其下游蛋白质合成相关通路信号蛋白的影响。**方法:**以自然衰老 SD 大鼠为研究对象,将 6 月龄雄性 SD 大鼠 32 只,体重 400~450 g,饲养至大鼠 12 月龄,根据体重随机分为 4 组。对照组(YC,只抓取、固定、放回,不做其他干预),电针组(YA,电针干预),运动组(YE,运动干预),电针+运动组(YEA,电针结合运动干预),自 SD 大鼠 12 月龄开始持续干预至 18 月龄,实验结束时观察各组自然衰老大鼠:骨骼肌湿重/体重比;光学显微镜下比目鱼肌 HE 染色形态;Real-time qPCR 法检测骨骼肌中 IGF-I mRNA 的表达水平;Western 印迹法测定的大鼠腓肠肌中 AKT、mTOR、p70S6K 和 p-p70S6K 相关蛋白表达情况。**结果:**与 YC 组相比,YA 组、YEA 组皆明显增加 18 月龄大鼠腓肠肌湿重/体重比( $P<0.05$ );YEA 组能明显增加比目鱼肌湿重/体重比,高于 YC 组和 YA 组( $P<0.05$ )。与 YC 组相比,各个干预组大鼠的腓肠肌 IGF-I mRNA 表达水平皆有上升趋势,其中 YEA 组 IGF-I mRNA 表达增加更为明显( $P=0.051$ )。与 YC 组相比,电针组(YA)p-Akt,p-mTOR 表达升高( $P<0.05$ ),电针+运动组(YEA)p-Akt,p-mTOR,p-p70S6K 表达也显示出升高趋势( $P<0.05$ )。**结论:**电针结合有氧运动可延缓 18 月龄自然衰老大鼠增龄性骨骼肌萎缩,其分子机制可能与通过激活 IGF-I/Akt 通路,促进蛋白质合成有关。

**【关键词】** 有氧运动; 低频电针; 肌萎缩; 蛋白质生物合成

中图分类号:R746.4;R245.97

DOI:10.12200/j.issn.1003-0034.2021.03.017

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**Effect of electroacupuncture combined with aerobic exercise on IGF-I/Akt pathway in skeletal muscle of aging rats**

WEN Pei-tong, XU Ping\*, HU Li, ZHANG Wei-bo, and GAO Yuan. School of Acupuncture and Massage, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203, China

**ABSTRACTS Objective:** To explore the effects of low-frequency electroacupuncture combined with aerobic exercise on sarcopenia, and the effects of IGF-I/Akt and its downstream signaling pathway-related protein. **Methods:** Naturally aging SD rats were used as research objects. Thirty-two 6-month-old male SD rats weighing 400 to 450 g were bred to 12-month-old and randomly divided into 4 groups according to body weight: Control group (YC, only grasp, fix, put back, without other intervention), electroacupuncture group (YA, electroacupuncture intervention), exercise group (YE, exercise intervention) and electroacupuncture+exercise group (YEA, electroacupuncture combined with exercise intervention). SD rats were continuously intervened from 12 months to 18 months of age. At the end of the experiment, the conditions of naturally aging rats in each group were observed: skeletal muscle wet weight/weight ratio; HE staining morphology of soleus muscle under light microscope; qPCR was used to detect the expression level of IGF-I mRNA in skeletal muscle; the expression of AKT, mTOR, p70S6K and p-p70S6K proteins in rat gastrocnemius was determined by Western blot. **Results:** In 18-month-old rats, the intervention period was 6 months. (1) Compared with YC group, YA group and YEA group significantly increased the wet weight/body weight ratio of gastrocnemius muscle in 18 months old rats. YEA group could significantly increase the wet weight/body weight ratio of soleus muscle compared with YC group YC group and YA group ( $P<0.05$ ). (2) Compared with YC group, the increase of the expression of IGF-I mRNA in YEA group was more obvious ( $P=0.051$ ). (3) The expression of p-Akt and p-mTOR in YA group was significantly higher than that in YC group ( $P<0.05$ ), and the expression of p-mTOR, p-p70S6K also showed an increasing trend in YEA group ( $P>0.05$ ). **Conclusion:** Electroacupuncture combined with aerobic exercise can attenuate sarcopenia in 18-month-old naturally aging rats. The molecular mechanism may be related to the promotion of protein synthesis by activating

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81373755);国家自然科学基金青年科学基金项目(编号:81403470)

Fund program: National Natural Science Foundation of China (No.81373755)

通讯作者:徐平 E-mail: xp99@163.com

Corresponding author: XU Ping E-mail: xp99@163.com

the IGF-I / Akt pathway.

**KEYWORDS** Aerobic exercise; Low frequency electroacupuncture; Muscle atrophy; Protein biosynthesis

随着年龄增长,骨骼肌质量及力量下降,会出现增龄性骨骼肌萎缩(sarcopenia),也称肌少症<sup>[1-2]</sup>。研究表明,60~70岁人群,增龄性骨骼肌萎缩发病率为5%~13%,80岁以上的人群中发病率甚至可高达50%<sup>[3]</sup>,增加摔倒、骨折风险,表明独立生存的能力下降,反映了衰老的程度,并成为预测死亡率的一个重要指标。骨骼肌是人体最大的运动和内分泌器官,也是蛋白质储存与代谢的重要场所<sup>[4]</sup>。胰岛素样生长因子 IGF-I 水平下降、体力运动不足作为主要诱因,可能影响骨骼肌蛋白质合成相关 Akt/mTOR/p70S6K 通路,进而影响骨骼肌萎缩的进展。低、中等强度有氧运动可以提高机体活动能力,促进骨骼肌蛋白质合成<sup>[2-4]</sup>。电针治疗能够减缓或中风偏瘫、周围性面瘫,骨折后废用性肌萎缩,并且提高肌肉运动能力。电针干预对模拟失重,以及糖尿病、慢性肾病等多种肌萎缩模型,可以增加骨骼肌重量改善肌肉功能<sup>[5]</sup>。本研究为探讨低频电针结合有氧运动对增龄性骨骼肌萎缩的效应,并讨论其对 IGF-I/Akt 及其下游蛋白合成通路的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与分组

SD 大鼠 32 只,雄性,6 月龄,体重 400~450 g,由西普尔-毕凯实验动物有限公司提供,动物许可证号:SCXK(沪)2014-0008,饲养于上海中医药大学实验动物中心(SPF 级),分笼饲养,每笼 3 只,自由饮水和摄取食物(国家标准啮齿类动物常规饲料),以灯光为光源,光照与黑暗为 12 h 节律性变化(光照时间 7 时~19 时),室温 20~25 ℃,湿度 40%~56%,保持通风。自由饮水和饮食,每周换垫料 2~3 次。至接近 12 月龄,剔除疾病、意外死亡等不符合实验要求者,根据体重随机分层分组,分为 4 组:对照组(YC,只抓取、固定、放回,不做其他干预),电针组(YA,电针法干预),运动组(YE,运动法干预),电针+运动组(YEA,电针结合运动干预),每组 8 只。

### 1.2 干预方案

在 12 月龄前 2 周开始训练适应干预方法,12 月龄开始正式干预,每周 3 次,3 周后休息 1 周为 1 个疗程,至疗程结束。电针干预方法:取穴:(1)肾俞穴(双侧),(2)足(后)三里穴(双侧)。定位及方法参照李忠仁主编《实验针灸学》。固定大鼠,穴位区域 75%乙醇消毒后,0.25 mm×25 mm(直径×长度)无菌针灸针,舒张进针法直刺,进针深度 7~10 mm,在针柄中部连接 G6805-2 电针治疗仪。刺激参数:频率 2 Hz,疏密波,刺激强度以触及或见到大鼠背部及下

肢肢轻微收缩抖动为度,根据大鼠的反应适时调整刺激强度,留针时间每次 15 min。疗程:每周 3 次,3 周为 1 个疗程,每个疗程之间休息 1 周。固定时间治疗,一般在 8~12 时。运动干预方法:跑台运动。跑速 15 m/min,坡度 5°,跑台最下端有电流扰频器,若大鼠停止运动,会在尾部给予电刺激,使其继续运动。每次运动 2 min×6 次,两次运动之间休息 2 min。每周 3 次,3 周后休息 1 周为 1 疗程。电针+运动干预:电针结束后休息 1 h,开始运动干预。对照组:只抓取、固定、放回,不做其他干预。

### 1.3 标本取材

各组分别于处理因素结束,待大鼠休息 24 h 后,采用 10%水合氯醛(0.3 ml/100 g)麻醉,迅速获取比目鱼肌、腓肠肌及趾长伸肌称重,一部分用锡纸包裹标记后立即置于液氮中,另取一部分置于 4%多聚甲醛溶液以制备石蜡切片。待所有标本收集完成后立即置于-80 ℃超低温冰箱以备用。

### 1.4 检测项目与方法

**1.4.1 一般状态** 观察各组大鼠的饮食、毛发及精神活动状态。

**1.4.2 湿重/体重比** 观察记录各组大鼠的腓肠肌、比目鱼肌的肌肉湿重(双侧肌肉的平均湿重)及体重(处死前麻醉时称量的体重)。计算肌肉湿重/体重比:腓肠肌(比目鱼肌)湿重/体重比=双侧腓肠肌(比目鱼肌)湿重/体重×100%。

**1.4.3 HE 染色** 比目鱼肌组织 HE 染色采用常规石蜡切片,对比目鱼肌进行 HE 染色;采用 OLYMPUS CX21 型光学显微镜观察骨骼肌形态;采用 Leica IM50 image manager V1.20 分析软件对切片进行抓图、存储与分析。

**1.4.4 18 龄各组自然衰老 SD 大鼠的 IGF-I mRNA 表达水平** 取大鼠腓肠肌,Trizol 提取组织中总 RNA,检测浓度后,取 4 μg RNA 逆转录成 cDNA,然后取 cDNA 进行 PCR 扩增反应,采用 Eva Green 作为荧光染料,扩增条件:95 ℃预变性 5 min,95 ℃变性 30 s,60 ℃退火和延伸 45 s,循环数为 40 次,通过实时荧光定量 PCR 测定系统(Realtime qPCR)自动记录目标基因以及内参基因的 Ct 值,将有关数据导出,剔除数据中明显差异的极端值。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算各基因的相对表达量,进行数据分析。PCR 引物列表见表 1。

**1.4.5 Western 印迹测定大鼠腓肠肌中 AKT、mTOR、p70S6K 和 p-p70S6K 相关蛋白表达** 取腓肠肌组织 50 mg,粉碎后高速离心,按照 BCA 蛋白定

**表 1 Realtime-PCR 引物列表**  
**Tab.1 List of realtime PCR primers**

引物名称	引物序列(5'to3')	碱基数	扩增片段长度
GAPDH	F: TGCTGACTATGTCGTGGAG	19	288 bp
	R: GTCCTCTGAGTGGCAGTGAT	20	
IGF-1	F: TGGTGGACGCTCTTCAGTTC	20	123 bp
	R: TCCGGAAGCAACACTCATCC	20	

量试剂盒说明测定蛋白浓度。用分光光度计测定蛋白浓度,加入 6 倍蓝色电泳上样缓冲液 60  $\mu$ l,将蛋白在沸水中煮 5 min 后,取 20  $\mu$ l 上样至 SDS-PAGE 胶加样孔。用 PVDF 膜,电压 100 V,置于冰浴中转膜 2 h。将 5 g 脱脂奶粉加入到 100 ml TBS 缓冲液配制 5% 封闭液,将膜置于封闭液中摇摆 30 min 后,用封闭液将膜立即放入稀释好的 AKT、mTOR、p70S6K 和 p-p70S6K 一抗,并置于摇床上均匀摇摆,4  $^{\circ}$ C 过夜,用 TBS-T 洗 3 次,每次 5 min。用封闭液将膜立即放入稀释好的二抗(1:1 500 比例)中,放置在摇床上室温内均匀摇摆 2 h,用 TBS-T 洗 3 次,每次 5 min。将膜置于红外荧光扫描成像系统上扫描。GAPDH 为内参。以 Image J 软件分析条带灰度值,相对表达量均经过内参 GAPDH 校正。

**1.5 统计学处理**

所有数据使用 SPSS19.0 统计软件处理。定量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )进行描述,资料先进行正态性检验,方差齐性检验,当方差齐时,各组间整体比较采用单因素方差分析(One Way Anova),当方差齐时用 LSD's 法进行比较各组间差异,当方差不齐时用 Dunnett's T3 法进行比较。定量资料非正态分布时,用非参数检验 Mann-Whitney,组间两两比较。检验标准  $\alpha=0.05$ 。用 GraphPad Prism 5.0 作图。作为不同的干预方法,运动和电针两个因素之间的交互作用使用 2 $\times$ 2 析因分析(Two-by-Two factorial Anova)。

**2 结果**

**2.1 骨骼肌湿重/体重比**

**2.1.1 各组 SD 大鼠体重、腓肠肌和比目鱼肌的湿重/体重比** 对于 18 月龄应用不同干预方法的自然衰老 SD 大鼠,与空白对照组(YC)相比,各干预组的腓肠肌以及比目鱼肌湿重/体重比值皆有上升。其中腓肠肌的湿重/体重比值,与空白对照组(YC)相比,电针+运动组(YEA)明显升高( $P<0.01$ ),电针组(YA)也明显升高( $P<0.05$ ),差异有统计学意义;与运动组(YE)相比,电针+运动组(YEA)更高( $P=0.001<0.01$ ),差异有统计学意义。对于比目鱼肌的湿重/体重比值,电针+运动组(YEA)高于空白对照组(YC)( $P<0.01$ ),并高于运动组(YE)( $P<0.01$ )及电针

**表 2 各组 18 月龄 SD 大鼠体重、腓肠肌和比目鱼肌的湿重/体重比( $\bar{x}\pm s$ )**

**Tab.2 Body weight, wet weight/body weight ratio of gastrocnemius and soleus muscles of 18-month-old SD rats in each group( $\bar{x}\pm s$ )**

组别	鼠数	体重(g)	湿重/体重( $\times 10000$ )	
			腓肠肌	比目鱼肌
空白对照组 YC	7	716.71 $\pm$	38.78 $\pm$	3.13 $\pm$
		84.98	3.98	0.29
运动组 YE	6	707.17 $\pm$	43.42 $\pm$	3.26 $\pm$
		101.70	4.21*	0.42
电针组 YA	4	718.13 $\pm$	45.07 $\pm$	3.24 $\pm$
		90.22	0.10*	0.15
电针+运动组 YEA	6	699.5 $\pm$	50.33 $\pm$	4.08 $\pm$
		68.69	0.66***	0.44***
F 值		0.669	8.231	11.493
P 值		0.582	0.001	0.000

注:与空白对照组(YC)比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.05$ ;与运动组(YE)比较,\* $P<0.05$

Note: compared with blank control group (YC), \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.05$ ; compared with exercise group, (YE) \* $P<0.05$

组(YA)( $P<0.05$ ),差异有统计学意义。见表 2。

**2.1.2 大鼠腓肠肌湿重/体重比的析因设计结果** 腓肠肌湿重/体重比,析因分析显示: $F=0.025, P=0.877>0.05$ ,尚不能认为运动与电针两因素对腓肠肌湿重/体重比存在交互作用。故考虑各因素主效应,运动因素能影响腓肠肌湿重/体重比, $F=6.446, P=0.021<0.05$ 。电针因素能影响腓肠肌的湿重/体重比, $F=11.452, P=0.003<0.01$ 。见表 3。

**表 3 运动、电针对 18 月龄大鼠腓肠肌湿重/体重比的析因设计结果**

**Tab.3 Factorial design results of exercise and electroacupuncture on wet weight/body weight ratio of gastrocnemius muscle in 18-month-old rats**

变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值
运动因素	1.29E-06	1	1.29E-06	6.446	0.021
电针因素	2.29E-06	1	2.29E-06	11.452	0.003
运动因素*电针因素	4.95E-09	1	4.95E-09	0.025	0.877
误差	3.60E-06	18	2.00E-07		

**2.1.3 大鼠比目鱼肌湿重/体重比的析因设计结果** 比目鱼肌湿重/体重比,析因分析显示: $F=3.868, P=0.065>0.05$ ,尚不能认为运动、电针两因素对 18 月龄大鼠比目鱼肌湿重/体重比存在交互作用。分析各因素主效应,运动因素能够升高比目鱼肌湿重/体重

比,  $F=12.627, P=0.002<0.01$ 。电针因素能升高比目鱼肌的湿重/体重比,  $F=11.564, P=0.003<0.01$ 。见表 4。

表 4 运动、电针对 18 月龄大鼠比目鱼肌湿重/体重比的析因设计结果

Tab.4 Factorial design results of wet weight / body weight ratio of soleus muscle in 18-month-old rats by exercise and electroacupuncture

变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值
运动因素	1.56E-08	1	1.56E-08	12.627	0.002
电针因素	1.43E-08	1	1.43E-08	11.564	0.003
运动因素 * 电针因素	4.77E-09	1	4.77E-09	3.868	0.065
误差	2.22E-08	18	1.23E-09		

### 2.2 大鼠比目鱼肌横切面肌纤维形态

在光镜下,观察 HE 染色的腓肠肌切片。18 月龄 YC 组:横切面,肌纤维结构紊乱、断裂、松散,肌纤维间出现间隙、分界不清,见肌纤维碎片,肌纤维直径大小差异较大,肌纤维形态边界圆润,出现圆形化纤维、角化肌纤维,细胞核中心化。细胞外基质增多。18 月龄大鼠 YA 组,横切面,骨骼肌纤维肌纤维排列欠规整,肌膜曲折,少量炎性细胞浸润,肌纤维之间间隙较大。YE 组骨骼肌细胞排列较整齐,肌纤维直

径大小均匀,细胞膜清晰,肌纤维排列整齐,针刺干预后,肌纤维排列较为紧密,圆形化肌纤维及细胞核中心化现象减少。18 月龄 YEA 组:横切面,骨骼肌细胞排列整齐,肌纤维直径大小非常均匀,肌纤维排列整齐。见图 1。

### 2.3 电针结合有氧运动对 18 月龄大鼠 IGF-I mRNA 表达的影响

与 18 月龄空白对照组相比,各个干预组腓肠肌 IGF-I mRNA 表达皆有上升趋势,其中 18 月龄运动+针刺组(YEA)IGF-I mRNA 表达增加更为明显( $U=-1.939, P=0.051$  单侧)。见图 2,表 5。

### 2.4 电针结合有氧运动对 18 月龄大鼠骨骼肌蛋白质合成相关的信号蛋白的影响

对于 18 月龄的自然衰老 SD 大鼠,与 18 月龄空白对照组(YC)相比,电针+运动组(YEA)Akt、p-mTOR、p-p70S6K 升高的趋势。非参数检验显示,电针组(YA)的腓肠肌内 p-Akt 的表达较空白对照组(YC)明显升高( $Z=-2.239, P<0.05$ ),电针组(YA)在腓肠肌内的 p-mTOR 表达水平高于空白对照组(YC)( $Z=-0.021, P<0.05$ ),差异有统计学意义。见图 3,表 6。

## 3 讨论

增龄性的骨骼肌萎缩其临床表现符合中医的痿

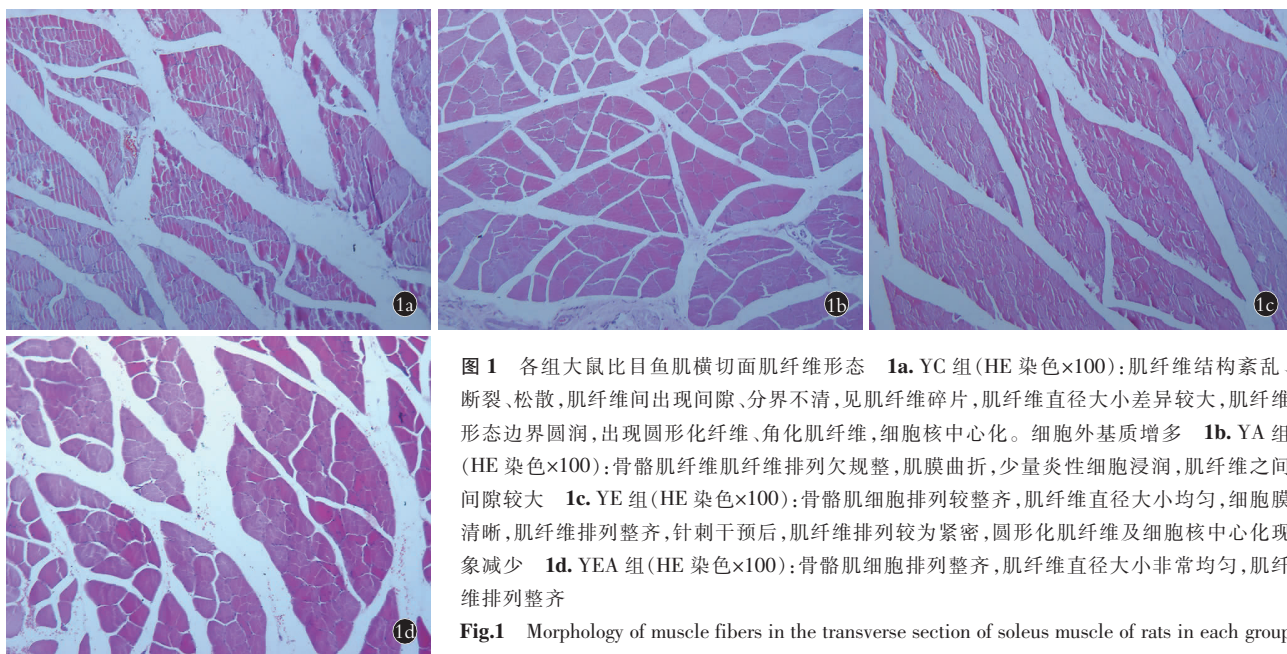


图 1 各组大鼠比目鱼肌横切面肌纤维形态 1a. YC 组(HE 染色×100):肌纤维结构紊乱、断裂、松散,肌纤维间出现间隙、分界不清,见肌纤维碎片,肌纤维直径大小差异较大,肌纤维形态边界圆润,出现圆形化纤维、角化肌纤维,细胞核中心化。细胞外基质增多 1b. YA 组(HE 染色×100):骨骼肌纤维肌纤维排列欠规整,肌膜曲折,少量炎性细胞浸润,肌纤维之间间隙较大 1c. YE 组(HE 染色×100):骨骼肌细胞排列较整齐,肌纤维直径大小均匀,细胞膜清晰,肌纤维排列整齐,针刺干预后,肌纤维排列较为紧密,圆形化肌纤维及细胞核中心化现象减少 1d. YEA 组(HE 染色×100):骨骼肌细胞排列整齐,肌纤维直径大小非常均匀,肌纤维排列整齐

Fig.1 Morphology of muscle fibers in the transverse section of soleus muscle of rats in each group 1a. YC group(HE×100):the structure of muscle fiber was disordered, broken and loose, the gap and

boundary between muscle fibers were not clear, muscle fiber fragments were seen, the diameter of muscle fiber was quite different, the shape boundary of muscle fiber was round, round fiber, keratinized fiber appeared, and nucleus was centralized. Extracellular matrix increased 1b. YA group (HE×100): the arrangement of skeletal muscle fibers was irregular, the muscular membrane was tortuous, a small amount of inflammatory cells infiltrated, and the space between muscle fibers was large 1c. YE group (HE×100): the arrangement of skeletal muscle cells was orderly, the diameter and size of muscle fibers were uniform, the cell membrane was clear, the arrangement of muscle fibers was orderly, after acupuncture, the arrangement of muscle fibers was relatively close, and the phenomenon of round muscle fibers and nucleus centralization was reduced 1d. YEA group(HE×100): in the transverse section, the skeletal muscle cells were arranged in order, the diameter and size of muscle fibers were very uniform, and the muscle fibers were arranged in order

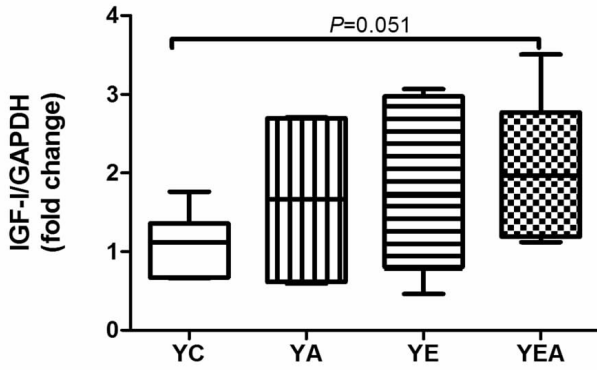


图2 不同干预方法对18月龄自然衰老SD大鼠骨骼肌IGF-I mRNA表达影响 (1)用实时定量PCR(qPCR)检测18月龄自然衰老SD大鼠空白对照组(YC)、18月龄运动组(YE)、18月龄电针组(YA)、18月龄电针+运动组(YEA)的IGF-I mRNA的表达水平。其中相对表达量用GAPDH mRNA作为内参进行校正;条形图bar显示在 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法相对定量时,以18月空白对照组(YC)的mRNA值作为内参基因,经过校正后,其余各组mRNA的值与对照组的值根据倍数进行比较;(2)数据均以M(Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)表示

Fig.2 Effect of different intervention methods on the expression of IGF-I mRNA in skeletal muscle of 18 month old naturally aging SD rats (1)real time quantitative PCR (qPCR) was used to detect the expression of IGF-I mRNA in the blank control group (YC), 18 month exercise group (YE), 18 month electroacupuncture group (YA), 18 month electroacupuncture + exercise group (YEA). Among them, GAPDH mRNA was used as internal reference to correct the relative expression; bar graph showed that when the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method was used for relative quantification, the mRNA value of the blank control group (YC) in 18 months was used as internal reference gene. After correction, the mRNA value of other groups was compared with that of the control group according to multiple; (2)the data were all expressed in M (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)

证,即肢体筋脉弛缓,软弱无力,且日久不用并伴有肌肉萎缩的一类病。引起增龄性骨骼肌萎缩原因及病理机制非常复杂多样,目前认为与运动量下降、细胞凋亡、骨骼肌线粒体功能紊乱、激素水平下降(IGF-I)、血管病变,慢性炎症反应、厌食或营养不良引发蛋白质摄入不足、疾病消耗、神经退化(神经-肌肉功能衰退及运动单位重组)及基因、种族等有

表5 不同干预方法对18月龄自然衰老SD大鼠骨骼肌IGF-I mRNA表达影响( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.5 Effects of different intervention methods on the expression of IGF-I mRNA in skeletal muscle of 18-month-old naturally aging SD rats ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数	IGF-I mRNA (fold)
空白对照组 YC	7	1.01±0.35
运动组 YE	6	1.46±0.02
电针组 YA	4	1.88±0.31
电针+运动组 YEA	6	1.30±0.78
U 值		-1.931
P 值		0.051

关[6]。从中医角度分析,以上这些因素体现了阳气虚衰,其推动、温煦、防御、固摄、气化功能的下降,使得脏腑器官功能下降,形体劳损,经脉不通,气机不畅,人体运行失常,骨骼肌逐渐萎缩,其质量和运动功能、分泌与代谢功能下降。

所以肌肉的状态能直观而实时的反映人体全身衰老的情况,包括脏腑、经络、营卫、气机的动态变化。而维持骨骼肌质量,调节骨骼肌的功能,减少骨骼肌的萎缩的过程就是在延缓全身性的衰老。阳气的来源主要有两部分,先天的肾气,以及后天脾胃吸收的水谷精气。足三里穴,作为足阳明胃经的合穴,同时也是胃的下合穴,在多气多血的阳明经末端,反映了气血强盛的情况,同时也通过调节脾胃功能,帮助气血生化。该穴为临床治疗虚劳、下肢痿痹常用穴,研究显示足三里穴能够促进组织修复[7],抗运动疲劳[8],改善血流[9],促进神经生长,其影响不仅仅在局部,而是循环及全身[10]。肾俞穴,是肾气直接输注于背腰部的腧穴,反映肾气的充足,同时对其进行干预也可以激发调补肾气。足三里,肾俞同时治疗可以看作是激发先后天之本,激活全身的阳气,从而抗衰老且延缓骨骼肌萎缩。

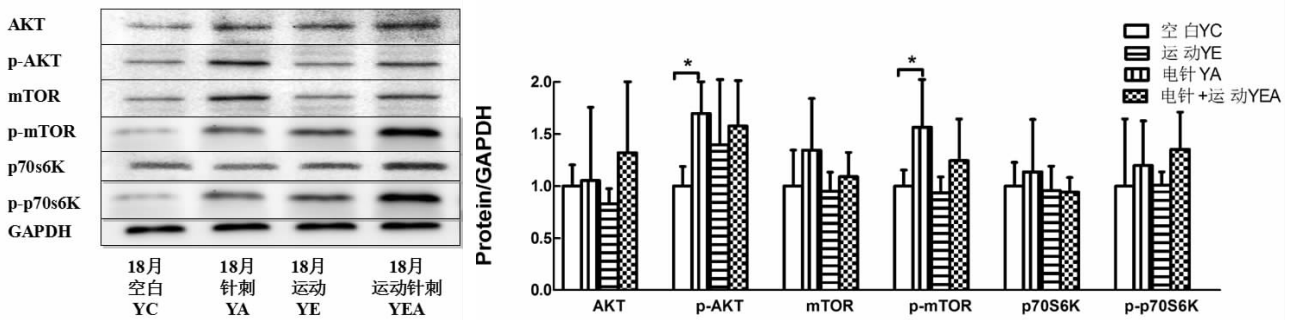


图3 运动、电针长期干预对18月龄自然衰老SD大鼠腓肠肌蛋白质合成相关通路的影响, \*P<0.05

Fig.3 Effects of long-term exercise and electroacupuncture on protein synthesis related pathways in gastrocnemius muscle of 18 month old naturally aging SD rats, \*P<0.05

表 6 不同干预方法对 18 月龄自然衰老 SD 大鼠腓肠肌蛋白质合成相关通路的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.6 Effects of different intervention methods on protein synthesis related pathways of gastrocnemius muscle in 18-month-old naturally aging SD rats( $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数	AKT	p-AKT	mTOR	p-mTOR	p70S6K	p-70S6K
空白对照组 YC	7	0.74±0.15	0.54±0.10	0.78±0.27	0.47±0.14	0.68±0.26	0.55±0.38
运动组 YE	6	0.61±0.11	0.75±0.33	0.73±0.07	0.45±0.13	0.62±0.11	0.56±0.10
电针组 YA	4	0.98±0.63	0.85±0.46	0.84±0.18	0.59±0.26	0.64±0.22	0.76±0.27
电针+运动组 YEA	6	0.78±0.53	0.92±0.20	1.00±0.24	0.70±0.13	0.71±0.20	0.64±0.18
Z 值		-1.155	-2.309	-1.443	-2.021	-0.289	-0.866
P 值		0.248	0.021	0.149	0.043	0.773	0.386

### 3.1 电针结合运动法对骨骼肌湿重/体重比的影响

本研究结果显示对于干预了 6 个月的 18 月龄自然衰老大鼠,电针、运动都可以明显增加腓肠肌和比目鱼肌的湿重/体重比。虽然经过析因分析,尚不能认为电针、运动两个因素对腓肠肌和比目鱼肌湿重/体重比有交互作用。但是单因素方差分析显示,电针+运动组(YEA)比单纯运动组(YE)的大鼠更明显的升高腓肠肌湿重/体重比值,即减缓增龄引起的骨骼肌萎缩。与电针组(YA)相比,电针+运动组(YEA)比目鱼肌湿重/体重比值明显升高( $P<0.05$ )。这里提示,电针、运动干预都能够增加增龄性大鼠骨骼肌的质量,进而对增龄性骨骼肌萎缩起到一定的延缓作用,但是不同的干预方法对于不同的肌肉或者肌群效应可能不同。

### 3.2 电针结合运动法对骨骼肌 IGF-I 表达水平的影响

胰岛素生长因子-I (insulin-like growth factor I, IGF-I)是骨骼肌主要的调节因子,随着年龄的增长,血清以及局部组织内的 IGF-I 表达水平是下降的<sup>[11-12]</sup>。在局部肌肉 IGF-I 过表达维持使骨骼肌肥大并且帮助骨骼肌生长和再生,而通过损伤、机械刺激,可以使局部组织自分泌或者旁分泌使得骨骼肌内 IGF-I 水平的升高<sup>[13]</sup>。本实验结果显示,对于 18 月龄自然衰老大鼠,与空白对照组(YC)相比,电针+运动组(YEA)有升高的趋势( $P=0.051$ )。运动组(YE)以及电针组(YA)骨骼肌内 IGF-1mRNA 表达水平也有升高趋势。三者趋势是电针最低,运动次之,电针+运动最高。提示 6 个月有氧运动联合电针促进 18 月龄自然衰老大鼠 IGF-1 在局部骨骼肌内生成,并可能促进蛋白质合成。

### 3.3 电针结合运动法对骨骼肌 p-Akt, p-mTOR 表达水平的影响

当骨骼肌自分泌或旁分泌的 IGF-I 水平增高后,可以活化磷酸酯酰肌-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K),PI3K 进一步激活 Akt, 磷酸化

的 Akt (Ser473 和 Thr308 位点),可以激活 mTOR, 在细胞内与其他蛋白会形成复合物形式存在,产生两种不同的复合物<sup>[14]</sup>。mTORC1 的通路只由雷帕霉素激活,调节合成代谢,包括蛋白质合成,线粒体生成,核糖体生成等,其受到激活后能够调节下游靶蛋白,磷酸化激活核糖体蛋白 S6K1,抑制真核细胞翻译启动子(4E-Binding Protein 1, 4E-BP1)的活性,直接或间接启动蛋白质翻译<sup>[15]</sup>。然而 mTORC2,可以激活 Akt,可以再重复激活 mTORC1 本研究结果显示。当转基因使老鼠体内 Akt 持续激活时,可以促进骨骼肌蛋白质合成,而脂肪减少<sup>[16]</sup>。

本研究结果显示电针组(YA)能够明显升高腓肠肌内 p-Akt, p-mTOR 的表达水平,电针+运动组 p-Akt, p-mTOR, p-p70S6K 的表达也呈现升高趋势,且高于运动组(YE),p-p70S6K 的表达还要高于电针组(YA)。前面已经分析,电针+运动组能够升高 18 月龄大鼠腓肠肌的 IGF-I mRNA 的表达水平。提示 6 个月的电针、电针结合运动干预可能同上调 IGF-I 表达,激活 18 月龄大鼠 Akt/mTOR 通路,诱导蛋白质合成。

综上所述,本研究从骨骼肌蛋白合成的角度,探讨了低频电针联合有氧运动减缓 18 月龄增龄性 SD 大鼠骨骼肌萎缩的作用及其分子机制,电针结合有氧运动,可延缓大鼠增龄性骨骼肌萎缩的进程,优于单纯电针、运动干预,其机制可能与增加骨骼肌蛋白合成有关。

#### 参考文献

- [1] Beaudart C, McCloskey E, Bruyère O, et al. Sarcopenia in daily practice: assessment and management [J]. BMC Geriatr, 2016, 16 (1): 170-170.
- [2] Kang SH, Jeong WK, Baik SK, et al. Impact of sarcopenia on prognostic value of cirrhosis: going beyond the hepatic venous pressure gradient and MELD score [J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2018, 9(5): 860-870.
- [3] Tyrovolas S, Koyanagi A, Olaya B, et al. Factors associated with skeletal muscle mass, sarcopenia, and sarcopenic obesity in older adults: a multi-continent study [J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle,

- 2016,7(3):312-321.
- [4] Bacurau AV, Jannig PR, de Moraes WM, et al. Akt/mTOR pathway contributes to skeletal muscle anti-atrophic effect of aerobic exercise training in heart failure mice[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 214: 137-147.
- [5] 王丽娟, 史晓伟, 张伟, 等. 针刀干预对膝骨关节炎兔股四头肌肌腱拉伸力学的影响[J]. *中国骨伤*, 2019, 32(5): 462-468.  
WANG LJ, SHI XW, ZHANG W, et al. Effect of needle knife intervention on tensile mechanics of femoral quadriceps tendon in rabbits with knee osteoarthritis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2019, 32(5): 462-468. Chinese.
- [6] 朱亚琼, 彭楠, 周明. 肌少症的发病机制[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2014, 13(8): 637-640.  
ZHU YQ, PENG N, ZHOU M. Pathogenesis of sarcopenia[J]. *Zhonghua Lao Nian Duo Qi Guan Ji Bing Za Zhi*, 2014, 13(8): 637-640. Chinese.
- [7] 方剑乔, 马桂芝, 梁宜. 电针足三里、三阴交穴治疗大鼠胶原性关节炎及其部分血液流变学机制[J]. *浙江中医药大学学报*, 2008, 32(5): 652-655.  
FANG JQ, MA GZ, LIANG Y. Effect of Electroacupuncture at Points Zusanli (ST 36) and Sanyinjiao (SP 6) on Collagen-induced arthritis in rats and its mechanism visa blood rheology[J]. *Zhejiang Zhong Yi Yao Da Xue Xue Bao*, 2008, 32(5): 652-655. Chinese.
- [8] 刘汉平, 梁波, 曾常春, 等. 针刺足三里不同组穴对疲劳大鼠运动耐力、骨骼肌及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2009, 27(7): 1369-1372.  
LIU HP, LIANG B, ZENG CC, et al. Effects of acupuncture at ST36 combination with other point on sport endurance and antioxidant enzyme activity in muscle and liver of exercise induced fatigue rat [J]. *Zhonghua Zhong Yi Yao Xue Kan*, 2009, 27(7): 1369-1372. Chinese.
- [9] 李红, 朱梅菊, 许可, 等. 针灸足三里穴对大负荷训练血液流变学、红细胞形态的干预[J]. *体育科学*, 2004, (1): 31-34.  
LI H, ZHU MJ, XU K, et al. Effect of acupuncture on hemorheology and morphology of erythrocyte for athletes with maximal training [J]. *Ti Yu Ke Xu*, 2004(1): 31-34.
- [10] 刘芳, 黄光英. 针刺对经脉穴位微循环血流量的影响[J]. *微循环学杂志*, 2007, 17(1): 8-11.  
LIU F, HUANG GY. Effects of Acupuncture on blood flow of meridional point [J]. *Wei Xun Huan Xue Za Zhi*, 2007, 17(1): 8-11. Chinese.
- [11] Cabrera D, Ruiz A, Cabello - Verrugio C, et al. Diet - induced nonalcoholic fatty liver disease is associated with sarcopenia and decreased serum insulin-like growth factor-1 [J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(11): 3190-3198.
- [12] Hofmann M, Halper B, Oesen S, et al. Serum concentrations of insulin-like growth factor-1, members of the TGF-beta superfamily and follistatin do not reflect different stages of dynapenia and sarcopenia in elderly women [J]. *Exp Gerontol*, 2015, 64: 35-45.
- [13] Chen LY, Wu YH, Liu LK, et al. Association among serum insulin-like growth factor-1, frailty, muscle mass, bone mineral density, and physical performance among community-dwelling middle-aged and older adults in Taiwan [J]. *Rejuvenation Res*, 2018, 21(3): 270-277.
- [14] Matheny RW Jr, Carrigan CT, Abdalla MN, et al. RNA transcript expression of IGF-1/PI3K pathway components in regenerating skeletal muscle is sensitive to initial injury intensity [J]. *Growth Horm IGF Res*, 2017, 32: 14-21.
- [15] Wu ZR, Yan L, Liu YT, et al. Inhibition of mTORC1 by lncRNA H19 via disrupting 4E-BP1/Raptor interaction in pituitary tumours [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4624.
- [16] Zhang J, Xu K, Liu P, et al. Inhibition of Rb phosphorylation leads to mTORC2-Mediated activation of Akt [J]. *Mol Cell*, 2016, 62(6): 929-942.

(收稿日期: 2020-02-19 本文编辑: 王玉蔓)