

按经选穴针刺对失眠大鼠下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体 mRNA 表达的影响

吴雪芬,袁建菱,郑雪娜,郭鑫,陈小丽,刘丽,魏歆然

【摘要】 目的:观察按经选穴针刺对失眠大鼠下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体 mRNA 表达的影响,探讨针刺治疗失眠症的疗效机制及按经选穴针刺对腧穴配伍效应的影响。方法:将 60 只 SD 大鼠随机分为 5 组,即:空白组、模型组、百会+神门穴组、百会+三阴交穴组、百会+非经非穴组,每组 12 只,通过腹腔注射 DL-4-氯苯基丙氨酸混悬液建立失眠模型大鼠,各治疗组针刺相应腧穴,每次 30min,治疗 7d。运用实时荧光定量方法检测大鼠下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体 mRNA 表达量。结果:与模型组比较,各针刺组大鼠下丘脑 5-HT 1a 受体 mRNA 表达量均有一定程度的升高,5-HT 2a 受体 mRNA 表达量均有一定程度的降低,且以百会+神门穴组调节效果最明显,百会+三阴交穴组及百会+非经非穴组次之。结论:针刺治疗可能通过调节失眠大鼠下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体 mRNA 的表达发挥治疗作用,且按经选穴针刺可能是影响腧穴配伍效应的影响因素之一。

【关键词】 针刺;失眠;5-HT 1a;5-HT 2a;按经选穴;腧穴配伍

【中图分类号】 R49;R245.2 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2018.05.002

Effect of Acupuncture Treatment on 5-HT 1a and 5-HT 2a mRNA Expression in Hypothalamus of Insomnia Rats Wu Xuefen, Yuan Jianling, Zheng Xuena, et al. Acupuncture and Massage College, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

【Abstract】 Objective: To observe the effect of acupuncture treatment on 5-HT 1a and 5-HT 2a mRNA expression in hypothalamus of insomnia rats and to explore the effect of acupuncture on insomnia and investigate whether acupuncture acupoints at different meridians are the key factor to determine the difference of acupoints synergy effect. **Methods:** Sixty SD rats were randomly divided into 5 groups, including blank group, model group, Baihui + Shenmen group, Baihui + Sanyinjiao group, Baihui + non-acupoint group, with 12 rats in each group. Chlorophenylalanine suspension was injected intraperitoneally to establish insomnia model in rats. Each treatment group received acupuncture in relevant acupoints, 30 min each time, for 7 days. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of 5-HT 1a and 5-HT 2a mRNA in hypothalamus of rats. **Results:** As compared with the model group, the expression of 5-HT 1a in the hypothalamus of each acupuncture group increased to a certain extent and the expression of 5-HT 2a decreased to a certain extent. The curative effect of Baihui + Shenmen group was the best, followed by Baihui + Sanyinjiao group. **Conclusion:** The therapeutic effect of acupuncture may be performed by regulating the expression of 5-HT 1a and 5-HT 2a mRNA in the hypothalamus of insomnia model rats. Acupuncture acupoints at different meridians may be one of the factors that cause the difference in acupoints synergy effect.

【Key words】 acupuncture; insomnia; 5-HT 1a; 5-HT 2a; the selected acupoint; acupoints compatibility

失眠是指经常不能正常睡眠,主要表现为入睡困难,睡眠时间短,睡眠质量差,早醒和日间功能障碍等。睡眠是人体随自然界变化而出现的周期性静息状态,对维持生命至关重要,具有提高生命活力、健康指数、促进脑和身体恢复功能的作用^[1],睡眠功能发生障碍则会出现失眠,失眠患者觉醒时通常伴有脑功能降低^[2-3]。正常人每天有 7~8h 处于睡眠状态。现代研

究表明^[4],睡眠是大脑中调节睡眠-觉醒周期的多个中心参与的神经化学过程。而下丘脑腹外侧视前区是调控睡眠/觉醒的主要结构之一^[5]。研究发现 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)能神经元对睡眠-觉醒周期具有双重调整作用,既可以促进觉醒,又是产生非快眼动睡眠(non rapid eye movement sleep, NREM)的必备条件,同时还能协同去甲肾上腺素(norepinephrine, noradrenalin, NE)触发快眼动睡眠(rapid eye movement, REM),故 5-HT 是睡眠与觉醒的枢纽之一^[6]。5-HT 受体在睡眠-觉醒机制中也有重要作用,5-HT 1a 受体可减少 REM 睡眠且增加 REM 潜伏期,5-HT 2a 受体具有激发觉醒的作用^[7]。近年来研

基金项目:国家重点基础研究计划(2014CB543102);国家自然科学基金(81673886)

收稿日期:2017-06-24

作者单位:湖南中医药大学针灸推拿学院,长沙 410007

作者简介:吴雪芬(1991-),女,硕士在读,主要从事针灸治病作用机理与临床研究。

通讯作者:袁建菱, jly888666@qq.com

究表明^[8],针刺治疗失眠症具有良好的疗效。临床上针刺治疗失眠症的选穴方法多样,正确的腧穴配伍是提高针刺疗效的关键因素之一,不同的腧穴配伍方式与针刺治疗失眠的疗效密切相关^[9-10]。本研究通过固定按部选穴(百会),对比配伍本经穴、他经穴、非经穴对失眠大鼠下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体表达的影响,探讨针刺治疗失眠症的疗效机制及按经选穴针刺对腧穴配伍效应影响的特异性,为临床针灸治疗失眠症的选穴原则及配穴方法提供一定的实验参考。

1 材料与方 法

1.1 材料 ①实验动物与分组:无特定病原体(Specific Pathogen Free, SPF)SD 雄性大鼠 60 只,8~9 周龄,体质量 220~250g/只。由湖南中医药大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(湘)2013-0004。正式实验开始前,先将大鼠适应性饲养 1 周,分 12 笼饲养,每笼 5 只,圈养于动物中心实验室。饲养室内温度 23℃~26℃,室内湿度 45%~65%。饲养 1 周后将大鼠随机分为 5 组:空白组、模型组、百会+神门穴组、百会+三阴交穴组、百会+非经非穴组,每组 12 只。②主要化学试剂和仪器:DL-4-氯苯基丙氨酸(4-Chloro-DL-phenylalanine, PCPA),戊巴比妥钠,碳酸氢钠片,氢氧化钠片,阿拉伯胶,动物型超纯水机,PH 精密试纸,电热水恒温杯, RNA 提取试剂,逆转录核糖核酸酶抑制剂, Taq DNA 聚合酶(Taq DNA polymerase),随机引物(Random primers)、琼脂糖(agarose),荧光定量试剂盒, Hot Start Fluorescent PCR Core Reagent Kits(SYBR Green qPCR),实时荧光定量 PCR 扩增仪, 756 型紫外分光光度计, ABI 7300 Real-Time PCR System,超低温冰箱, UVP 凝胶扫描系统,微量移液器, DYZ-22A 型双恒定时电泳仪, DYY-III 桥式电泳仪,台式高速冷冻离心机,华佗牌一次性使用无菌针灸针。

1.2 方法 ①动物模型制备:正式实验开始前,大鼠均自由进食饲料、水,保持饲养笼内垫料干燥,适应性喂养 7d 后称体重并记录;造模方法参照冯浩^[11],除空白组外,其余各组于第 8 天腹腔注射 PCPA 混悬液,每日 1 次,连续注射 2d,制造失眠模型大鼠。具体操作如下:首先配置所需浓度和剂量的 PCPA 混悬液, PCPA 临用前按大鼠体重 500mg/kg 用量,用事先配置好的弱碱性生理盐水(PH:7~8)和 10%阿拉伯胶搅拌,用超声机超声 15min 后,制成 PCPA 混悬液(100mg/ml)备用。用注射器取与大鼠体重相对应的混悬液剂量,于下腹部旁开 1cm 处,按针尖与体表成 45°角,针尖朝上进针,进针后上挑针头以避免脏器。

回抽注射器,若无回血,则缓慢注入;若见回血现象,应停止注射,出针后再调整方向后进针。同时,空白组采用同样的操作方法,腹腔注射等体积弱碱性生理盐水。造模成功的判定:失眠大鼠会出现昼夜节律缺失、日间与夜晚皆活动不断、对外界刺激异常敏感、烦躁不安等相关症状。首次注射 PCPA 36h 后,观察模型组大鼠的生理状态,结合采用经典的戊巴比妥钠翻正实验,观察空白组大鼠与模型组大鼠的睡眠潜伏期及睡眠总时间的差异,进行失眠模型评价,模型组与空白组比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),提示造模成功。②戊巴比妥钠实验^[12]:预实验测得戊巴比妥钠按照大鼠体重 35mg/kg 剂量为引起 100%大鼠睡眠的最小阈值剂量,按 50mg/ml 浓度溶于生理盐水后进行腹腔注射,提起大鼠尾巴,将大鼠腹部朝上放在平台上,记录大鼠的睡眠潜伏期和睡眠持续时间。以大鼠反正反射消失为睡眠,以大鼠翻正反射恢复为觉醒,注射戊巴比妥钠到翻正反射消失之间为潜伏期,翻正反射消失到觉醒为睡眠持续时间。③治疗方法:造模完成后,于第 2 次注射 PCPA 的第 24h 后,开始对实验大鼠进行干预。空白组大鼠常规饲养,不做任何处理。模型组大鼠予以仰卧位束缚于鼠板上,只捆绑,不进行针刺,每日 1 次, 30min,连续 7d,每天捆绑结束后正常进食。各针刺组大鼠选穴参考大鼠穴位定位^[13]。百会+神门穴组选取“百会穴”、双侧“神门穴”,百会+三阴交穴组选取“百会穴”、双侧“三阴交穴”,百会+非经非穴组选取“百会穴”、双侧非经非穴点^[14],非经非穴点参照成都中医药大学所制定的选穴方法,此点在非经脉循行路线上及非穴位所在部位。将大鼠仰卧位束缚于鼠板上,定穴后局部剪毛,络合碘消毒,采用 1 寸、30 号的华佗牌针灸针进行针刺,留针时间 30min,每 10min 行针 1 次,行针时间 1min,不提插、只捻转,行平补平泻手法,捻转幅度为 180°,频率 60 次/min,第 30min 时,在行针结束后出针,每日 1 次,每天治疗后正常进食,连续治疗 7d。穴位定位及针刺方法:百会穴:位于顶骨正中处,从后向前平刺 20mm;神门穴:位于前肢内侧腕部横纹尺骨边缘,直刺 1mm;三阴交穴:位于后肢内踝尖直上 10mm,直刺 5mm;非经非穴点:位于肘内侧,肘尖与腋窝连线中点,直刺 5mm。

1.3 评定标准 ①生理检测:行为学观察:每天观察大鼠精神状态、动作灵敏性、反应敏捷性、昼夜节律,毛发光泽度,体重变化以及活动度、饮水量、饮水量、毛发、粪便等一般情况。②生化检测:末次行为学检测后禁食不禁水 12h,腹腔注射 10%水合氯醛(350mg/kg)麻醉,各组大鼠在冰台上断头处死,取下丘脑,称取重量,加入一定量的 PBS, PH:7.4,置于一 80℃冰箱保存。

备用。运用实时荧光定量 PCR 方法检测下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体的表达:采用 Trizol 总 RNA 提取试剂盒提取各组大鼠下丘脑总 RNA;Green Two-Step qRT-PCR SuperMix 试剂盒将总 RNA 逆转录成 cDNA 后测定下丘脑中的 5-HT 1a、5-HT 2a 受体 mRNA 的表达量。以 actin 作内参,采用 $2^{-\Delta Ct}$ 分析法分析大鼠下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体基因的相对表达量:循环阈值(ΔCt)=Ct 样品均值-Ct 内参均值,标本基因/内参基因= $2^{-\Delta Ct}$,荧光定量 PCR 引物:内参基因 β -actin 引物序列为:上游 5'-TGTCACCAACTGGGACGATA-3',下游 5'-GGGGTGTGGAAGGTCTCAA-3';5-HT 1a 引物序列为:上游 5'-ATCTCGCTCACTTGGCTCAT-3',下游 5'-GTG-GTCCTTGCTGATGGTG-3',扩增片段长度为 111bp;5-HT 2a 引物序列为:上游 5'-AACGGTC-CATCCACAGAGAG-3',下游:5'-ATGGGCACCA-CATTACAACA-3',扩增片段长度为 129bp;PCR 扩增条件 95℃ 10min,95℃ 15s,58℃ 20s,72℃ 30s,共 45 个循环。

1.4 统计学方法 数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析,正态分布资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。经检验满足正态性及方差齐性,采用单因素方差分析进行多组间均数比较,用 LSD 法进行多重比较;不满足方差齐性,用 Tamhane T2 检验。偏态分布资料用中位数(M)和四分位数间距(QR)表示,组间比较用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 大鼠死亡情况 实验过程中共有 7 只大鼠死亡,其中模型组 4 只,百会+三阴交穴组 1 只,百会+非经非穴组 2 只。

2.2 生理检测结果 造模后 36h 评价,与空白组比较,模型组大鼠出现昼夜节律消失、白天活动不停、对外界的声、光等刺激异常敏感,烦躁不安,兴奋性增高、攻击性增强、毛硬粗糙、毛竖起无光泽,大便色泽灰白,持续观察一周期间体重增加缓慢、饮食量明显减少、饮水量明显增多,以上失眠症伴随症状提示造模成功。3 个治疗组于治疗 3d 后开始表现恢复昼夜节律,饮水量较前减少,饮食量较前增多,异常情绪较前缓解,大便恢复正常黄褐色等。

2.3 造模前后戊巴比妥钠睡眠实验结果比较 大鼠首次注射 PCPA 36h 后,进行戊巴比妥钠睡眠实验,空白组与模型组大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(35mg/kg, 50mg/ml),进行失眠模型评价,模型组与空白组睡眠潜伏期与睡眠总时间的差异:空白组造模前后睡眠潜

伏期差异无统计学意义,睡眠总时间差异无统计学意义;模型组大鼠注射戊巴比妥钠后,与造模前相比,造模后睡眠潜伏期显著长于造模前($P < 0.05$),睡眠总时间显著短于造模前($P < 0.05$),提示造模成功。见表 1。

表 1 造模前后戊巴比妥钠睡眠实验的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	n	睡眠潜伏期(s)		睡眠时间(min)	
		造模前	造模后	造模前	造模后
空白组	12	223.50±22.56	240.33±29.14	49.58±5.43	45.75±1.81
模型组	12	233.75±22.67	362.25±36.49 ^a	49.33±5.36	31.58±1.37 ^a

与造模前比较,^a $P < 0.05$

2.4 按经选穴针刺对失眠大鼠下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体 mRNA 表达的影响 与空白组比较,模型组大鼠下丘脑 5-HT 1a 受体 mRNA 表达量显著降低($P < 0.01$),5-HT 2a 受体 mRNA 表达量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,百会+神门穴组 5-HT 1a 受体 mRNA 表达量明显升高($P < 0.01$),5-HT 2a 受体 mRNA 表达量明显降低($P < 0.01$);与百会+神门穴组比较,百会+三阴交穴组及百会+非经非穴组 5-HT 1a 受体 mRNA 表达量明显减少($P < 0.05$, 0.01),百会+三阴交穴组 5-HT 2a 受体 mRNA 表达量无显著性差异,百会+非经非穴组 5-HT 2a 受体 mRNA 表达量明显升高($P < 0.05$);与百会+三阴交穴组比较,百会+非经非穴组 5-HT 1a、5-HT 2a 受体 mRNA 表达量无明显差异。见表 2。

表 2 治疗后各组大鼠下丘脑 5-HT 1a、5-HT 2a 受体 mRNA 表达的比较 $\%, \bar{x} \pm s$

组别	n	5-HT 1a/ β -actin	5-HT 2a/ β -actin
空白组	12	1.97±0.74	0.12±0.05
模型组	8	0.82±0.48 ^a	0.30±0.15 ^a
百会+神门穴组	12	1.67±0.72 ^b	0.15±0.07 ^b
百会+三阴交穴组	11	1.07±0.49 ^c	0.17±0.08 ^c
百会+非经非穴组	10	0.89±0.45 ^d	0.24±0.15 ^c

与空白组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$;与百会+神门穴组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

2.5 治疗结束后戊巴比妥钠睡眠实验结果 治疗 7d 后,于末次治疗当晚 20:00 进行戊巴比妥钠翻正实验测试睡眠潜伏期及睡眠时间。睡眠潜伏期:与空白组比较,模型组延迟($P < 0.05$);与模型组比较,3 个治疗组均提前($P < 0.05$);3 组间比较无明显差异;睡眠时间比较:与空白组比较,模型组减少($P < 0.05$);与模型组比较,百会+神门穴组延长($P < 0.05$),百会+三阴交穴组、百会+非经非穴组无显著变化;治疗组之间比较,百会+神门穴组长于百会+三阴交穴组、百会+非经非穴组($P < 0.05$);百会+三阴交穴组、百会+非经非穴组之间无明显差异。见表 3。

表3 治疗结束后大鼠睡眠潜伏期、睡眠时间的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	n	潜伏期(s)	睡眠时间(min)
空白组	12	240.33±29.14	45.75±1.81
模型组	8	362.25±36.49 ^a	31.58±1.37 ^a
百会+神门穴组	12	278.50±40.73 ^{ab}	34.50±1.56 ^{ab}
百会+三阴交穴组	11	261.67±23.38 ^{ab}	32.33±0.88 ^{ac}
百会+非经非穴组	10	266.33±15.75 ^{ab}	32.00±0.95 ^{ac}

与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与百会+神门穴组比较,^c $P<0.05$

3 讨论

导致失眠的病因多而复杂,随着现代生活的节奏加快,失眠症的发病率逐年上升,长期失眠使人们的正常生活受到很大的影响,且易并发其他疾病。大量的古代及现代研究证实,针灸治疗失眠症疗效显著,在临床上运用越来越多,备受研究者关注。饮食、情志、劳倦、体虚等因素均是导致失眠的病因,上述因素导致邪气扰动心神或心神失于濡养、温煦,心神不安,阴阳失调;其病机关键在于神失所主、心神不安;病位主要在心,且与脾、肝、肾等密切相关。

百会穴位于头顶,属督脉穴,头为诸阳之会,百脉之宗。杨上善说“胃流津液渗入古空,变而为髓,头中最多,故为海也。是肾所生,其气上输脑盖百会穴,下输风府也”。百会穴为各经脉之气会聚之处,调节机体的阴阳,具有醒脑开窍、镇静安神、升阳举陷等作用。“心主血脉,又主神明,为君主之官”,心藏神,神在人体的生命活动中占有重要地位,神门为心经之原穴,具有镇静安神之效,心神得安,则能入眠。三阴交属足太阴脾经,可通调三阴经之经气,从而使阴可敛阳。由此可见,以上穴位与失眠症有着及其密切的关系,故本实验以百会穴作为固定按部选穴,治疗各组在此基础上分别配以不同经脉穴位,即按经选穴,神门穴为心经之原穴,某一脏腑或经脉发生病变时,遵循“不盛不虚,以经取之”的取穴原则,故在本研究中,神门为本经穴,三阴交为他经穴,为说明经穴是否具有特异性,故另设一组“百会+非经非穴”作为对照组,使得实验设计更为合理。

自1969年Jouvet和Koella提出了5-HT致眠学说后,至今大量研究证实5-HT是改善失眠症状不可替代的单胺类神经递质,继而发现,中缝核不同部位的5-HT能神经元与非快速眼动睡眠(non rapid eye movement sleep, NREMS)的产生和维持有关,也可触发快速眼动睡眠(rapid eye movement, REM),分泌不足时能引起大脑皮层兴奋和抑制功能的紊乱,进而导致睡眠时相慢波睡眠和快波睡眠发生了紊乱^[15],且中缝核尾端的5-HT神经元恰是蓝斑中后部快波睡

眠的“触发机制”^[16],故5-HT是睡眠与觉醒的枢纽之一。最新的5-HT受体分类是根据基因结构、氨基酸序列、第二信使及药理作用的不同分为七类(5-HT₁₋₇),每个类别又分为多种亚型。其中与睡眠相关性最高的是5-HT_{1a}、5-HT_{2a}受体^[17],5-HT_{1a}受体激动剂可升高脑内5-HT含量,从而减少REM睡眠且增加REM潜伏期以达到治疗失眠的目的,5-HT_{2a}受体具有激发觉醒的作用^[7]。PCPA是一种5-HT生成抑制剂,可以耗竭中枢神经的神经递质5-HT^[18]。故采用PCPA造模是目前常用的制造失眠模型大鼠的方法。5-HT_{2a}受体拮抗剂可通过增加SWS和NREMS从而减少觉醒次数,且对REMS无影响^[19]。因此现代医学认为5-HT_{1a}受体激动剂与5-HT_{2a}受体拮抗药物可用于治疗失眠。Sookoian等^[20]通过实验显示,冬眠期松鼠大脑皮层及海马的5-HT_{1a}受体表达增加,5-HT_{1a}受体的mRNA水平在松鼠冬眠期处于相对较高的水平。余军等^[21]证实针刺治疗对失眠小鼠有延长睡眠时间、缩短睡眠潜伏期等促眠作用,其机理可能是使PCPA失眠大鼠中缝背核(NRD)降低的5-HT含量升高、大鼠NRD的5-HT_{1a}受体表达增强、5-HT_{2a}受体表达减弱。许峰^[9]采用中药干预失眠大鼠,可通过影响下丘脑及海马内5-HT_{1a}、5-HT_{2a}受体表达引起下丘脑及海马内5-HT含量的改变,从而起到治疗失眠的作用。罗本华^[19]采用3种针法治疗PCPA化失眠大鼠,证实针刺可增强失眠大鼠海马内5-HT_{1a}受体表达,并减弱5-HT_{2a}受体表达。本实验采用PCPA混悬液造模方法并结合戊巴比妥钠睡眠实验对模型大鼠进行评价,发现大鼠造模后睡眠潜伏期显著多于造模前,而睡眠总时间显著少于造模前,结合造模后大鼠生理情况的变化,如昼夜节律消失,对光、声敏感,兴奋性和攻击性增强,饮水量减少,饮水量增多等,提示造模成功。各针刺组大鼠经针刺治疗后,下丘脑5-HT_{1a}受体表达量均有升高趋势,5-HT_{2a}受体表达量均有降低趋势,且大鼠情绪、昼夜节律、饮水量、饮水量等都有一定程度的恢复,治疗结束后结合戊巴比妥钠实验,结果提示,与模型组相比,治疗组睡眠潜伏期均缩短,百会+神门穴组睡眠时间延长,且长于百会+三阴交穴组、百会+非经非穴组,说明5-HT_{1a}受体表达量的升高和5-HT_{2a}受体表达量的降低可延长大鼠睡眠潜伏时间,并一定程度延长睡眠时间,在改善睡眠方面显示出一定疗效,起到安神镇静的作用,且实验结果与以上研究结果一致^[17,21-22]。非经非穴组5-HT_{1a}、5-HT_{2a}受体mRNA表达较模型组虽无明显差异,但治疗后睡眠潜伏期提前,也显示出一定的治疗效果,说明除5-HT_{1a}、

5-HT_{2a}受体水平外,可能还存在其他改善睡眠的机制,需要进一步探讨。该实验表明针刺治疗失眠症的疗效确切,其改善睡眠的机制可能是通过调节失眠大鼠下丘脑 5-HT_{1a}、5-HT_{2a}受体 mRNA 的表达实现的。各针刺治疗组之间比较,针刺“神门穴”、“三阴交穴”、“非经非穴”均可起到一定的治疗作用,神门穴疗效最佳,三阴交穴及非经非穴疗效次之。

综上所述,不同的腧穴配伍方式,疗效也不相同,本实验通过固定取穴“百会”,再分别配以不同经脉腧穴(心经、脾经、非经非穴),设计 3 个治疗组,对比本经穴、他经穴、非经非穴的疗效差异,按经选穴分组明显。根据本实验结果,针刺穴位改善睡眠的疗效确切,且神门穴可作为临床治疗失眠的必要穴位,三阴交穴及非经非穴也表现出一定的疗效,可作为符合辨证的参考穴位。同时本实验表明,5-HT_{1a}、5-HT_{2a}受体与睡眠有密切的关系,按经选穴针刺是腧穴配伍效应的影响因素之一。

【参考文献】

- [1] Maquet P. Sleep function(s) and cerebral metabolism[J]. *Behav Brain Res*, 1995, 69(12):75-83.
- [2] Narizhnaya M, Ebben M R. Insomnia[M]. *Sleep Disorders in Adolescents*: Springer International Publishing, 2017:512-513.
- [3] Hammes A E, Wahner-Roedler D L, Bauer B A. Treating the root cause: acupuncture for the treatment of migraine, menopausal vasomotor symptoms, and chronic insomnia[J]. *Explore the Journal of Science & Healing*, 2014, 10(4):256-259.
- [4] Stenberg D. Neuroanatomy and neurochemistry of sleep[J]. *CMLS*, 2007, 64(10): 1187-1204.
- [5] Coomans C P, Ramkisoensing A, Meijer J H. The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2015, 37(1): 29-42.
- [6] 顾思臻, 窦丹波. 中医药对 PCPA 失眠大鼠模型 HPA 轴相关单胺类神经递质及激素影响的研究进展[J]. *上海中医药大学学报*, 2015, 29(1):83-86.
- [7] Sue JW, Jayne EB, Ann SR, et al. The use of sleep measures to compare a new 5HT_{1A} agonist with buspirone in humans [J]. *Nutt J Psychopharmacol*, 2005, 19(11): 609-611.
- [8] 刘义, 冯慧, 刘文娟. 针刺对原发性失眠症患者觉醒状态调节作用及其相关神经电生理学效应研究[J]. *中国针灸*, 2017, 37(1):19-23.
- [9] 李萍, 岳增辉, 谢涛. 针灸治疗失眠的腧穴配伍研究概述[J]. *山东中医杂志*, 2015, 34(11):887-889.
- [10] 张国雪, 刘昊, 王富春. 论腧穴配伍与针灸处方[J]. *中国针灸*, 2014, 34(10):987-990.
- [11] 冯浩. 熟眠方对失眠模型大鼠下丘脑内 5-HT_{1a}、DRD₂ 受体 mRNA 表达及 5-HT、DA 含量的影响[D]. 长春中医药大学, 2014.
- [12] Gustafson C, Partch C L. Emerging Models for the Molecular Basis of Mammalian Circadian Timing[J]. *Biochemistry*, 2014, 54(2):134-49.
- [13] 郭义. 实验针灸学[M]. 第 4 版, 北京:中国中医药出版社, 2016: 354-360.
- [14] 郑晖, 李瑛, 刘英, 等. 电针少阳经穴与非经非穴对偏头痛患者脑血流影响研究[J]. *成都中医药大学学报*, 2013, 36(1):76-79.
- [15] 杨岑, 冉明梓, 欧阳鹏荣, 等. 五羟色胺在睡眠-觉醒中作用[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(11):2191-2194.
- [16] 钟静瑜, 黄俊山. 5-羟色胺与睡眠的研究进展[J]. *医学综述*, 2010, 16(10):1471-1472.
- [17] 许峰. 基于 5-HT_{1a}、5-HT_{2A}、DD₂ 受体系统及 HPA 轴的“熟眠方”治疗失眠机制研究[D]. 长春, 长春中医药大学, 2014.
- [18] 郜红利, 涂星, 卢映, 等. 心肾不交所致失眠大鼠模型[J]. *中成药*, 2014, 36(6):1138-1141.
- [19] Fish LR, Gilligan MT, Humphries AC, et al. 4-Fluorosulfonylpiperidines: selective 5HT_{2A} ligands for the treatment of insomnia [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 3665-3669.
- [20] Sookoian S, Gemma C, Gianotti T F, et al. Serotonin and serotonin transporter gene variant in rotating shift workers[J]. *Sleep*, 2007, 30(8):1049.
- [21] 余军, 孙忠人. 针刺神聪穴对失眠大鼠脑干网状结构单胺类递质调控机制的研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2007.
- [22] 罗本华, 陈周婧, 王燕. 3 种针法对 PCPA 诱导的失眠大鼠海马 5-HT_{1A}、5-HT_{2A} 蛋白表达的影响[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2016, 45(6):670-673.