

# 电针对透镜诱导型近视豚鼠视皮层中 M1 受体表达的抑制作用

王玲 沙芳 吴建峰 叶翔 毕爱玲 毕宏生

250002 济南, 山东中医药大学临床学院(王玲, 现在济宁医学院); 250002 济南, 山东中医药大学眼科研究所(沙芳、吴建峰、叶翔、毕爱玲、毕宏生)

通信作者: 毕宏生, Email: hongshengbi@126.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.05.002

**【摘要】** 背景 近视的进展中视皮层 M 受体是否有变化, 针灸治疗后视皮层 M 受体如何变化至今鲜见报道。目的 观察电针对透镜诱导型近视(LIM)豚鼠视皮层中 M1 受体表达的影响。方法 采用随机数字表法将 48 只 3 周龄三色短毛豚鼠随机分为正常对照组、近视模型组和近视电针组。正常对照组豚鼠未进行任何干预, 近视模型组和近视电针组豚鼠右眼配戴 -10 D 负性透镜共 4 周, 近视电针组豚鼠造模即日开始每日针灸太阳穴和合谷穴 30 min, 共持续 4 周。分别于造模前和造模后 4 周采用检影法和 A 型超声仪测定各组豚鼠的屈光度和眼轴长度。测量完毕后采用过量麻醉法处死豚鼠并获取两侧视皮层组织, 采用荧光定量 PCR 法检测各组豚鼠视皮层中 M1 受体 mRNA 的相对表达量; 采用 ELISA 法检测各组视皮层上清液中 M1 受体蛋白质量浓度。结果 造模后 4 周正常对照组、近视模型组和近视电针组豚鼠右眼的屈光度分别为  $(0.83 \pm 0.36)$ 、 $(-3.24 \pm 0.28)$  和  $(-3.30 \pm 0.45)$  D, 近视模型组和近视电针组豚鼠右眼的近视屈光度均明显高于正常对照组, 差异均有统计学意义(均  $P=0.000$ ), 近视模型组和近视电针组豚鼠右眼的近视屈光度差异无统计学意义( $t=0.200, P=0.659$ )。正常对照组、近视模型组和近视电针组豚鼠右眼的眼轴长度分别为  $(8.33 \pm 0.08)$ 、 $(8.67 \pm 0.14)$  和  $(8.60 \pm 0.06)$  mm, 其中近视模型组和近视电针组豚鼠右眼的眼轴明显长于正常对照组, 差异均有统计学意义(均  $P=0.000$ )。正常对照组、近视模型组和近视电针组豚鼠左侧视皮层 M1 受体 mRNA 的相对表达量分别为  $0.79 \pm 0.18$ 、 $1.36 \pm 0.23$  和  $1.13 \pm 0.13$ , 近视模型组豚鼠左侧视皮层 M1 受体 mRNA 的相对表达量均明显高于正常对照组, 而近视电针组豚鼠左侧视皮层 M1 受体 mRNA 的相对表达量明显高于正常对照组而低于近视模型组, 差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ )。正常对照组、近视模型组和近视电针组豚鼠左侧视皮层 M1 受体蛋白质量浓度分别为  $248.00 \pm 33.31$ 、 $455.17 \pm 42.40$  和  $396.17 \pm 47.57$ , 其中近视模型组 M1 受体蛋白质量浓度明显高于正常对照组而明显低于近视模型组, 差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ )。结论 电针刺激对近视豚鼠的屈光度和眼轴长度无明显影响, 近视豚鼠模型视皮层中 M1 受体表达增高, 电针治疗可能通过降低其表达而对近视眼发挥治疗作用。

**【关键词】** 针刺疗法; 近视/治疗; 针刺穴位; 乙酰胆碱/代谢; 受体; 视皮层/生理; 豚鼠; 动物模型

基金项目: 国家自然科学基金项目(81173440、81303081)

## Inhibitory effect of electroacupuncture on acetylcholine M1 receptor expression in visual cortex of guinea pigs with lens-induced myopia

Wang Ling, Sha Fang, Wu Jianfeng, Ye Xiang, Bi Ailing, Bi Hongsheng

Clinical Academy of Shandong University of Traditional Chinese Medicine (Wang L, now Jining Medical College, Jining 272113, China); Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, China (Sha F, Wu JF, Ye X, Bi AL, Bi HS)

Corresponding author: Bi Hongsheng, Email: hongshengbi@126.com

**【Abstract】** **Background** It has not been reported that if the visual cortex M receptor changed during the development of myopia and how it changed if given acupuncture treatment. **Objective** The aim of this study was to observe the effect of electroacupuncture stimulation on the expression of acetylcholine receptors M1 (AChRM1) in visual cortex of guinea with lens-induced myopia (LIM). **Methods** Forty-eight three-week-old healthy guinea pigs were randomized into the normal control group, the LIM model group and the LIM electroacupuncture group. The right eyes of the guinea pigs were selected as the experimental eyes. LIM was created by monocularly wearing of -10 D lens

for 4 weeks in the right eyes in the LIM model group and LIM electroacupuncture group, and then the acupuncture at the temple and hegu point was performed for 30 minutes per day for consequent 4 weeks, in the LIM electroacupuncture group. The fellow eyes of the guinea pigs were used as the self-control eyes. The refractive power and axial length were examined with retinoscopy and A-type sonography before and 4 weeks after modeling, respectively. The animals were sacrificed by excessive anesthesia at the fourth week after acupuncture and visual vertex tissue was obtained. The expression of M1 receptor mRNA in visual vertex was detected by fluorescence quantitative PCR, and the content of M1 receptor protein in visual vertex was assayed by ELISA. The study protocol was approved by Animal Ethic Committee of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, and the use and care complied with Statement of the Association for Research in Vision and Ophthalmology. **Results** At the fourth week after modeling, the mean diopters were  $(-3.24 \pm 0.28)$  D and  $(-3.30 \pm 0.45)$  D in the LIM model group and the LIM electroacupuncture group, which were significantly higher than  $(0.83 \pm 0.86)$  D in the normal control group (both at  $P=0.000$ ), and there was no significant difference in the diopter between the LIM model group and the LIM electroacupuncture group ( $t=0.200, P=0.659$ ). The mean axial lengths were  $(8.67 \pm 0.14)$  mm and  $(8.60 \pm 0.06)$  mm in the LIM model group and the LIM electroacupuncture group, which were considerably increased in comparison with  $(8.33 \pm 0.08)$  mm in the normal control group (both at  $P<0.05$ ). The relative expression levels of AchRM1 mRNA in visual cortex were  $0.79 \pm 0.18, 1.36 \pm 0.23$  and  $1.13 \pm 0.13$  in the normal control group, LIM model group and LIM electroacupuncture group, and the relative expression level of AchRM1 mRNA in the LIM electroacupuncture group was significantly higher than that of the normal control group and lower than that of the LIM model group (both at  $P<0.05$ ). In addition, the contents of AchRM1 receptor protein in the visual cortex were  $248.00 \pm 33.31, 455.17 \pm 42.40$  and  $396.17 \pm 47.57$  in the normal control group, LIM model group and the LIM electroacupuncture group, with a similar pattern among the groups (both at  $P<0.05$ ). **Conclusions** A electroacupuncture stimulation do not affect the myopic diopter and axial length in LIM model. The AchRM1 and AchRM1 receptor in the visual cortex up-regulate in LIM eyes, inferring that electroacupuncture stimulation can improve vision by decreasing the level of AchRM1 receptor in visual cortex in LIM eyes in guinea pigs.

[Key words] Acupuncture therapy; Myopia/therapy; Acupuncture points; Acetylcholine/metabolism; Receptor; Visual cortex/physiology; Guinea pigs; Disease model, animal

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81173440, 81303081)

目前,近视已成为危害人类视力的主要疾病,近视的发病机制及防治是目前的研究热点。研究发现不同近视动物模型的视网膜、脉络膜、巩膜中乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)毒蕈碱受体(M受体)变化不一致,临床研究证实, M受体阻滞剂可以延缓近视的发展<sup>[1-2]</sup>,提示 M受体参与近视的发生和发展。近视的形成过程中除眼球调节因素外,还有皮层视中枢的参与<sup>[3]</sup>,而目前近视形成过程中视皮层中的 M受体如何变化鲜有报道。研究发现针刺可改善近视患者的远视力,但不改变患者的眼轴和屈光度<sup>[4]</sup>。研究认为针灸疗法可对视觉中枢的神经体液调节过程产生影响<sup>[5]</sup>,但针刺与视皮层中 M受体的改变是否有关尚未见到报道。本研究探讨电针灸疗法对透镜诱导型近视(lens-induced myopia, LIM)豚鼠模型视皮层 M1受体表达的影响,为进一步研究人类近视的发病机制及针灸治疗提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物及分组** 3周龄英国种三色短毛豚鼠 36只(购于河南康达实验动物有限公司),体质量为 $(100 \pm 10)$ g,雌雄各半,饲养环境为 12 h/12 h 昼夜循环,排除有白内障、角膜病变、近视等眼部疾患的豚鼠。采用随机数字表法将豚鼠随机分为正常对照组、近视模型组和近视电针组,每组 12只,各组豚鼠均取右眼进行实验。正常对照组豚鼠不作任何干预,近视模型组和近视电针组豚鼠制作近视模型,近视电针组豚鼠给予电针治疗。本研究经山东中医药大学眼科研究所伦理委员会批准,实验动物的使用和喂养遵循 ARVO 声明。

**1.1.2 主要试剂及仪器** Trizol 液(北京艾德莱生物科技有限公司);实时荧光定量 PCR 仪、逆转录试剂盒(美国 Roche 公司);豚鼠 M1 酶联免疫吸附试剂盒(武汉基因美生物公司);cDNA 合成试剂盒(美国 Roche 公司);TRIpure(北京艾德莱生物科技有限公司)。眼科 A 型超声(法国 Quantel Medical 公司);LightCycler® 480 II 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Roche 公司);微量紫外分光光度计(北京凯奥公司);华佗牌 SDZ-V 型电

子诊疗仪(苏州医疗用品厂有限公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 豚鼠近视模型的制备** 制作直径约为 15 mm、屈光度为-10 D 的圆形镜片,以医用胶带缠绕后用万能胶黏附于豚鼠右眼,镜片与眼之间的距离约为 2 mm,操作过程中勿粘连眼睑,以避免胶水流入眼内。每日早晚各巡视豚鼠 1 次,若镜片脱落应及时重新粘贴;注意保持镜片清洁,镜片如有明显磨损或划痕则及时更换。动物戴镜 4 周。左眼不做处理作为自身对照。

**1.2.2 电针治疗方法** 参照文献[6]描述的方法选择电针穴位,合谷穴位于左右前肢第 1 和第 2 掌骨之间,太阳穴位于左右两侧外眼角后方颞窝。近视电针组豚鼠自戴镜之日起,每日 8:00~10:00 用电针灸刺激豚鼠两侧合谷穴与太阳穴 30 min,持续 4 周,电针治疗参数设置波形为连续波,刺激频率为 2 Hz,电脉冲长度为 0.1 s,电刺激强度为 2.0 mA。

**1.2.3 豚鼠屈光度及眼轴长度的测量** 造模前用质量分数 1% 盐酸环喷托酯滴眼液点眼扩瞳,测定豚鼠双眼屈光度,取垂直和水平 2 条主子午线检眼镜进行检影,取平均值。参照参考文献[7-8]的方法,采用 A 型超声仪测量豚鼠眼轴长度,测量时将超声探头垂直于角膜顶点,采用手动模式连续测量 10 次,取其平均值。测量均由同一技师操作。

**1.2.4 豚鼠视皮层组织标本的取材** 造模后 4 周,腹腔内注射体积分数 5% 水合氯醛处死动物,剂量为 6 ml/kg,然后自豚鼠颈部剪开皮肤,在颅骨前凶点做标记,止血钳分开颅骨,立即取出大脑组织,参考文献[9]中描述的视皮层位置,用 Matrix 脑模具取出双侧视皮层,置入 EP 管中,-80 °C 保存。

**1.2.5 实时荧光定量 PCR 法检测豚鼠视皮层中 M 受体 mRNA 的表达** 依据 PubMed Nucleotide GenBank 中提供的豚鼠 M1 受体和  $\beta$ -actin 序列,应用 DNASTar 引物设计软件设计引物,引物序列由上海生工生物工程股份有限公司合成。 $\beta$ -actin:上游引物为 5'-CACCGCCGTCAGCCCCAACAT-3',下游引物为 5'-CACAGGCCAGGCTCAGCAGGAAGT-3'。M1 受体上游引物为 5'-CACCCGCCGTCAGCCCCAACAT-3',下游引物为 5'-CACAGGCCAGGCTCAGCAGGAAGT-3'。用 TRIpure 提取视皮层组织的 RNA,-80 °C 保存备用。用微量紫外分光光度计测量 RNA 的吸光度(A)值,计算出波长为 260 nm 与 280 nm 处的 A 值比为 1.8~2.0。利用 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA,-20 °C 保存备用。PCR 总体积为 20.0  $\mu$ l,包括 LightCycler 480 SYBR Green I

Master 10.0  $\mu$ l、cDNA 模板 1.0  $\mu$ l、上下游引物各 0.5  $\mu$ l 及 DEPC 水 8.0  $\mu$ l。参照文献[10]的方法,设置 PCR 程序:95 °C 预变性 10 min;95 °C 变性 10 s,57 °C GABA(A),54 °C GABA(B),63 °C GABA(C) 退火 10 s,72 °C 延伸 20 s,共 45 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法,以  $\beta$ -actin 为内参,反应结束后用计算机自带软件对 M1 受体 mRNA 的相对表达量进行分析。

**1.2.6 ELISA 法检测豚鼠视皮层中 M1 受体蛋白的质量浓度** 豚鼠视皮层组织称质量后加入 20  $\mu$ l 生理盐水,冰浴中充分研磨,离心半径 30 cm,4 °C 下 3 000 r/min 离心 20 min,取上清液,应用 ELISA 试剂盒进行检测,按照操作说明,建立标准曲线后加入样品和标准品,在 450 nm 波长处测量各孔的 A 值,通过标准曲线及质量体积比计算 M1 受体蛋白的质量浓度。

## 1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件(软件序列号:4625180487,授权码:25437F4725C0882CFCDA,美国 SPSS 公司)进行统计分析。本研究中测量指标的计量资料经 Shapiro-Wilk 检验符合正态分布,以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间均数经 Levene 检验方差齐。采用随机分组两因素多水平实验设计,正常对照组、近视模型组和近视电针组间豚鼠屈光度和眼轴长度的总体比较采用单因素方差分析,不同眼别间屈光度和眼轴长度的差异比较采用配对 *t* 检验。正常对照组、近视模型组和近视电针组间及豚鼠不同视皮质部位间 M1 受体表达的总体比较均采用两因素方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验。采用双尾检测法, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组豚鼠眼屈光度及眼轴长度变化

造模后 4 周,近视模型组和近视电针组豚鼠右眼的屈光度明显增加,正常对照组、近视模型组和近视电针组间屈光度的总体比较差异有统计学意义( $F=345.495, P=0.000$ ),其中近视模型组、近视电针组右眼近视屈光度均明显高于正常对照组,差异均有统计学意义(均  $P=0.000$ ),而近视模型组与近视电针组右眼近视屈光度比较差异无统计学意义( $t=0.200, P=0.659$ )。近视模型组、近视电针组豚鼠右眼近视屈光度均明显高于各自的左眼,差异均有统计学意义( $t=-19.153, P=0.000; t=-30.122, P=0.000$ ),而正常对照组左右眼间屈光度的差异无统计学意义( $t=-0.753, P=0.467$ )。造模后 4 周各组豚鼠眼轴长度的总体比较差异有统计学意义( $F=34.378, P=0.000$ ),其中近视模型组、近视电针组豚鼠右眼眼

轴均长于正常对照组, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.000$ ), 而近视模型组与近视电针组间右眼眼轴长度的比较差异无统计学意义 ( $t = 0.429, P = 0.520$ )。近视模型组和近视电针组右眼眼轴均长于各自组内左

眼, 差异均有统计学意义 ( $t = 5.781, P < 0.000$ ;  $t = 11.772, P < 0.000$ ), 正常对照组左右眼间眼轴长度的差异无统计学意义 ( $t = 1.903, P = 0.084$ ) (表 1, 2)。

**表 1 造模后 4 周各组豚鼠屈光度及眼轴长度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	眼数	屈光度 (D)	眼轴长度 (mm)
正常对照组	12	0.83±0.36	8.33±0.08
近视模型组	12	-3.24±0.48 <sup>a</sup>	8.67±0.14 <sup>a</sup>
近视电针组	12	-3.30±0.45 <sup>a</sup>	8.60±0.06 <sup>a</sup>
<i>F</i>		345.495	34.378
<i>P</i>		0.000	0.000

注: 与正常对照组比较, <sup>a</sup> $P = 0.000$  (单因素方差分析, LSD-*t* 检验)

**表 2 造模后 4 周各组豚鼠不同眼别屈光度及眼轴长度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	眼数	屈光度 (D)			眼轴长度 (mm)		
		正常对照组	近视模型组	近视电针组	正常对照组	近视模型组	近视电针组
左眼	12	0.96±0.49	0.73±0.53	1.01±0.53	8.27±0.08	8.32±0.09	8.29±0.09
右眼	12	0.83±0.36	-3.24±0.48	-3.30±0.45	8.33±0.08	8.67±0.14	8.60±0.06
<i>t</i>		-0.753	-19.153	-30.122	1.903	5.781	11.772
<i>P</i>		0.467	0.000	0.000	0.084	0.000	0.000

(配对 *t* 检验)

**2.2 各组豚鼠视皮层中 M1 受体 mRNA 的相对表达量**

造模后 4 周近视模型组左侧视皮层中 M1 受体 mRNA 的相对表达量明显升高, 针刺治疗后近视模型组左侧视皮层中 M1 受体 mRNA 的相对表达量下降, 3 个组间总体比较差异有统计学意义 ( $F = 13.556, P = 0.000$ ), 其中近视模型组左侧视皮层和右侧视皮层 M1 受体 mRNA 的相对表达量均明显高于正常对照组, 差异均有统计学意义 ( $t = 219.170, P = 0.002$ ;  $t = 11.645, P = 0.007$ ), 近视电针组左侧视皮层中 M1 受体 mRNA 的相对表达量低于近视模型组, 但高于正常对照组, 差异均有统计学意义 ( $t = 5.719, P = 0.030$ ;  $t = 13.906, P = 0.004$ )。各组左侧和右侧视皮层间 M1 受体 mRNA 相对表达量的总体比较差异有统计学意义 ( $F_{\text{左右视皮层}} = 14.661, P = 0.010$ ), 其中近视模型组左侧视皮层中 M1 受体 mRNA 的相对表达量明显高于右侧, 差异有统计学意义 ( $t = 2.919, P = 0.033$ ), 而正常对照组和近视电针组左侧视皮层中 M1 受体 mRNA 的相对表达量与右侧视皮层中比较差异均无统计学意义 ( $t = -1.052, P = 0.341$ ;  $t = 2.040, P = 0.097$ ) (表 3)。

**表 3 各组豚鼠视皮层 M1 受体 mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	样本量	M1 受体 mRNA 相对表达量	
		左侧视皮层	右侧视皮层
正常对照组	12	0.79±0.18	0.86±0.12
近视模型组	12	1.36±0.23 <sup>a</sup>	1.00±0.11 <sup>c</sup>
近视电针组	12	1.13±0.13 <sup>ab</sup>	0.97±0.10

注:  $F_{\text{分组}} = 13.556, P = 0.000$ ;  $F_{\text{左右视皮层}} = 7.445, P = 0.010$ 。与正常对照组左侧视皮层比较, <sup>a</sup> $P = 0.000$ ; 与近视模型组左侧视皮层比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与各自组内的左侧视皮层比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$  (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

**2.3 各组豚鼠视皮层中 M1 受体蛋白质量浓度的比较**

造模后 4 周正常对照组左侧视皮层中 M1 受体蛋白质量浓度较低, 近视模型组视皮层中 M1 受体质量浓度明显升高, 针刺治疗后视皮层中 M1 受体质量浓度下降, 3 个组间总体比较差异有统计学意义 ( $F_{\text{分组}} = 37.648, P = 0.000$ ), 造模后 4 周近视模型组左侧视皮层和右侧视皮层中 M1 受体质量浓度明显高于正常对照组, 差异均有统计学意义 ( $t = 80.892, P = 0.000$ ;  $t = 118.386, P = 0.000$ ); 近视电针组左侧视皮层中 M1 受体质量浓度明显低于近视模型组, 但高于正常对照组, 差异均有统计学意义 ( $t = 5.292, P = 0.044$ ;  $t = 32.880, P = 0.000$ )。各组左侧和右侧视皮层间 M1 受体蛋白质量浓度的总体比较差异有统计学意义 ( $F_{\text{左右视皮层}} = 5.648, P = 0.024$ ), 其中近视模型组左侧视皮层中 M1 受体蛋白质量浓度高于右侧视皮层, 差异有统计学意义 ( $t = 2.795, P = 0.038$ ), 而正常对照组和近视电针组豚鼠左侧和右侧视皮层间 M1 受体蛋白质量浓度的差异均无统计学意义 ( $t = 0.854, P = 0.432$ ;  $t = -0.172, P = 0.870$ ) (表 4)。

**表 4 各组豚鼠视皮层中 M1 受体质量浓度比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}$ )**

组别	样本量	视皮层 M1 受体质量浓度	
		左侧视皮层	右侧视皮层
正常对照组	12	248.00±33.31	227.00± 3.27
近视模型组	12	455.17±42.40 <sup>a</sup>	409.50±17.16 <sup>c</sup>
近视电针组	12	396.17±47.57 <sup>ab</sup>	399.33±50.76

注:  $F_{\text{分组}} = 37.265, P = 0.000$ ;  $F_{\text{左右视皮层}} = 5.648, P = 0.024$ 。与正常对照组左侧视皮层比较, <sup>a</sup> $P = 0.000$ ; 与近视模型组左侧视皮层比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与近视模型组右侧视皮层比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$  (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

### 3 讨论

Ach 是大脑皮层重要的兴奋性神经递质,胆碱能受体分为 M 受体和 N 受体。M 型受体属于三磷酸鸟苷结合蛋白(G 蛋白)偶联受体家族,广泛存在于副交感神经节后纤维支配的效应器细胞上,调节神经信号的传递、心血管活动和平滑肌收缩等重要生理活动,与眼的调节功能有关。M 受体包括 M1 ~ M5 5 个亚型,广泛存在于眼球的各个部位。以往的动物实验证实, M1 受体特异性拮抗剂哌仑西平和 M4 受体拮抗剂 himbacin 都可以抑制动物形觉剥夺性近视的发展<sup>[11-12]</sup>,临床研究证实 M 受体的非特异性抑制剂阿托品可延缓青少年近视的发生和发展<sup>[1]</sup>,因此目前大多数研究认为 M 受体在近视的形成中发挥重要作用。Tigges 等<sup>[13]</sup>在猴单眼形觉剥夺性近视模型视皮层中有 M1 ~ M4 4 种 M 受体的表达,本研究中也发现 M1 受体存在于 LIM 豚鼠视皮层中,其基因和蛋白表达量均明显高于正常对照组,说明视皮层中的 M1 受体可能参与了豚鼠 LIM 的形成。但是,近视的形成机制是非常复杂的,在近视形成过程中 M1 受体如何参与 LIM 的形成还有待进一步研究。

针刺是祖国医学的重要组成部分,针灸的治疗作用与取穴密切相关,不同的取穴部位可能引起不同的效应。太阳穴为眼周奇穴,可以调节血气和经络,也是近视治疗中应用最多的穴位<sup>[14]</sup>。合谷穴属于手阳明经脉的主穴,对于头面、五官科疾病的疗效已经证实,针刺合谷穴可激活大脑颞叶和枕叶的活动<sup>[15]</sup>。本研究综合考虑代表性穴位(眼周穴和四肢穴)、可操作性等因素,同时依据临床实践的取穴经验,最终选取豚鼠两侧太阳穴与合谷穴同时针刺的方法,研究电针对近视治疗的可能作用机制。

临床研究发现,针刺对青少年近视的治疗有效率达 95% 以上,但真性近视患者在针刺治疗后其远视力虽然得到提高,但眼轴长度和屈光状态并无改变<sup>[14]</sup>。本研究中发现负透镜诱导后 4 周豚鼠的眼轴明显延长,近视度明显增加,说明模型制作成功,但近视模型组和近视电针组的眼轴长度和屈光度比较差异均无统计学意义,说明针刺对近视动物的眼轴长度和屈光度均无明显影响,与临床研究结果相符。

沈克艰<sup>[5]</sup>利用视觉诱发电位观察了针刺后患者大脑视皮层的功能改变,结果发现针刺对正视者视皮层有抑制作用,但对近视患者视皮层有兴奋作用,推测这是通过神经调节和神经内分泌系统的调节来实现的。本研究发现近视电针组豚鼠视皮层中 M1 受体

mRNA 的表达量较近视模型组明显下降,但比正常对照组明显升高,推测可能是因为针刺后视皮层 M1 受体表达量的降低可能导致 Ach 的兴奋性作用变弱,睫状肌放松,进而导致远视力提高,具体机制还需进一步研究。针刺对眼轴长度和屈光度并不产生明显影响,可能是由于 M1 受体的这种降低幅度太小,尚未达到一定程度所致;此外,近视后动物视网膜、视皮层中大量的递质,如多巴胺、谷氨酸、 $\gamma$  氨基丁酸均发生变化<sup>[16]</sup>,眼轴长度和屈光度不变而视力改变的原因可能是 Ach 与视皮层的其他递质综合作用的结果,这种现象与针刺的穴位或者针刺持续的时间是否有关也需进一步研究。

本研究中分别对豚鼠的两侧视皮层进行研究,主要是基于约 80% 的视觉信息在视交叉处传到对侧视皮层的原理<sup>[17]</sup>。本研究中发现,各组动物双侧视皮层中 M1 受体蛋白质量浓度及其 mRNA 表达量明显不同,可能与本研究中采用豚鼠右眼作为实验眼,其大部分视觉信息传递至左侧视皮层,所以左侧视皮层的 M1 受体量的改变比右侧视皮层明显有关。但是这种受体的改变会如何影响传出神经中递质的变化,进而对眼球产生何种影响还需进一步研究。

综上所述,LIM 豚鼠视皮层中 M1 受体及其 mRNA 的表达量明显升高,针刺豚鼠的太阳穴和合谷穴可降低视皮层中 M1 受体的表达量。但是近视的发病机制复杂,近视形成过程中视觉中枢的神经递质如何变化,各种递质的受体如何改变还未完全阐明,进一步研究电针治疗中其他 4 种 M 受体在视皮层中的变化方式、相互作用、Ach 变化与否、视觉中枢的传出神经递质如何作用于眼球的巩膜和视网膜等对揭示电针治疗近视的机制有重要意义。

### 参考文献

- [1] Li SM, Wu SS, Kang MT, et al. Atropine slows myopia progression more in Asian than white children by meta-analysis [J]. *Optom Vis Sci*, 2014, 91 (3) : 342-350. DOI: 10. 1097/OPX. 0000000000000178.
- [2] Cheng HC, Hsieh YT. The effect of low-concentration atropine combined with auricular acupoint stimulation in myopia control [J]. *Complement Ther Med*, 2014, 22 (3) : 449-455. DOI: 10. 1016/j. ctim. 2014. 03. 004.
- [3] Troilo D. Experimental studies of emmetropization in the chick [J]. *Ciba Found Symp*, 1990, 155 : 89-114.
- [4] Wang Y, Gao YX, Sun Q, et al. Acupuncture for adolescents with mild-to-moderate myopia; study protocol for a randomized controlled trial [J/OL]. *Trials*, 2014, 15 (5) : 477 [2015-11-03]. <http://trialsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1745-6215-15-477>. DOI: 10. 1186/1745-6215-15-477.
- [5] 沈克艰. 近视眼视觉诱发电位对针刺的反应 [J]. *上海针灸杂志*,

- 1995, 14(2): 55-56.
- Shen KJ. Reaction of VEP of myopia eye to acupuncture[J]. Shanghai J Acuuncture Moxibustion, 1995, 14(2): 55-56.
- [6] 李辞蓉, 华兴邦, 周洁良, 等. 豚鼠针灸穴位图谱的研制[J]. 上海针灸杂志, 1992, 21(2): 28-30.
- Li CR, Hua XB, Zhou JL, et al. Study of acupuncture point map of guinea pig[J]. Shanghai J Acupuncture Moxibustion, 1992, 21(2): 28-30.
- [7] Jiang L, Schaeffel F, Zhou X, et al. Spontaneous axial myopia and emmetropization in a strain of wild-type guinea pig (*Cavia porcellus*) [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(3): 1013-1019. DOI: 10.1167/iov.08-2463.
- [8] Lu F, Zhou X, Jiang L, et al. Axial myopia induced by hyperopic defocus in guinea pigs: a detailed assessment on susceptibility and recovery[J]. Exp Eye Res, 2009, 89(1): 101-108. DOI: 10.1016/j.exer.2009.02.019.
- [9] Nishimura M, Song WJ. Temporal sequence of visuo-auditory interaction in multiple areas of the guinea pig visual cortex [J/OL]. PloS One, 2012, 7(9): e46339 [2012-01-21]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0046339>. DOI: 10.1371/journal.pone.0046339.
- [10] Sha F, Ye X, Zhao W, et al. Effects of electroacupuncture Q1 on the levels of retinal gamma-aminobutyric acid and its receptors in a guinea pig model of lens-induced myopia [J]. Neuroscience, 2015, 287(2): 164-174. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.12.022.
- [11] Ganesan P, Wildsoet CF. Pharmaceutical intervention for myopia control [J]. Expert Rev Ophthalmol, 2010, 5(6): 759-787. DOI: 10.1586/eop.10.67.
- [12] McBrien NA, Cottrill CL, Annes R. Retinal acetylcholine content in normal and myopic eyes: a role in ocular growth control? [J]. Vis Neurosci, 2001, 18(4): 571-580.
- [13] Tigges M, Tigges J, Rees H, et al. Distribution of muscarinic cholinergic receptor proteins m1 to m4 in area 17 of normal and monocularly deprived rhesus monkeys [J]. J Comp Neurol, 1997, 388(1): 130-145. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9861(19971110)388:1<130::AID-CNE9>3.0.CO;2-2.
- [14] 陶晓雁, 茹凯, 郎松, 等. 针刺眼周奇穴治疗青少年近视疗效观察 [J]. 上海针灸杂志, 2012, 29(10): 643-645. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0957.2010.10.643.
- Tao XY, Ru K, Lang S, et al. Observations on the efficacy of acupuncture at periocular extraordinary points in treating juvenile myopia [J]. Shanghai J Acupuncture Moxibustion, 2012, 29(10): 643-645. DOI: 10.3969/j.issn.1005.0957.2010.10.643.
- [15] 杨骏, 李传富, 徐春生, 等. 健康成人合谷穴、后溪穴的针刺 fMRI 比较研究 [J]. 世界中医药, 2014, 9(12): 1575-1580. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2014.12.005.
- Yang J, Li CF, Xu CS, et al. An fMRI study on needling in Hegu (LI4) and Houxi (SI3) of adult healthy volunteers [J]. World Chinese Med, 2014, 9(12): 1575-1580. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2014.12.005.
- [16] 沙芳, 吴建峰, 毕宏生. 近视相关胆碱与多巴胺信号通路研究进展 [J]. 中华实验眼科杂志, 2014, 32(5): 457-461. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.05.015.
- Sha F, Wu JF, Bi HS. Research progress of choline and dopamine signaling pathways related to myopia [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2014, 32(5): 457-461. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.05.015.
- [17] 周振华, 鲁子惠. 动物视神经纤维的交叉与眼睛位置的关系 [J]. 解剖学报, 1966, 9(3): 406-412.
- Zhou ZH, Lu ZH. Relationship between optic nerve fiber interaction and eye position in animal [J]. Acta Anatomica Sinica, 1966, 9(3): 406-412.

(收稿日期: 2015-12-04)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)

## · 病例报告 ·

## 泪囊区弥漫大 B 细胞淋巴瘤一例

孙美玲

解放军第四六三医院眼科

通信作者: 孙美玲, Email: sylanping@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.05.003

患者, 男, 56 岁, 2014 年 2 月就诊于解放军第四六三医院眼科, 诊断为双眼泪囊区占位性病变。患者于 2013 年 8 月无明显诱因出现双眼溢泪, 以左眼为重, 无脓性分泌物, 泪囊区无红肿, 曾于其他医院行泪道冲洗, 泪道通畅, 之后双眼溢泪逐渐加重, 并于 2013 年 12 月发现左侧鼻根部与内眦部之间局部隆起, 肿物逐渐增大, 无红肿及疼痛, 无脓性分泌物。患者入院前 10 d 肿物生长加快, 并发现右眼泪囊区出现类似肿物, 同时出现声音嘶哑。全身检查见左侧颌下淋巴结及双侧颈前淋巴结肿大, 无压痛。右眼视力 0.5, 左眼 0.4。双眼眼位正常, 无眼球突出, 眼球运动不受限。右眼泪囊区皮下肿物直径约为

10 mm, 左眼泪囊区皮下肿物体积约为 20 mm×15 mm×15 mm, 双侧肿物表面皮肤色泽正常, 肿物质硬, 表面光滑, 活动度差, 挤压无分泌物溢出。双眼前后节检查未见异常。右眼泪道冲洗通畅, 但阻力大, 针头可触及泪前嵴骨壁; 左眼冲洗泪道不通, 液体自同眼另一泪点返流, 针头不能触及泪前嵴骨壁。辅助检查显示, 血细胞分析、凝血 4 项、肝功能、肾功能、人免疫缺陷病毒抗体等未见异常, 胸部 X 射线正位片未见异常。电子鼻咽喉镜检查显示, 鼻咽部黏膜充血, 局部黏膜隆起, 喉黏膜略充血, 舌根淋巴组织增生, 会厌、会厌谷、双侧室带、双侧梨状窝光滑, 双声带充血水肿, 未见肿物, 左半喉固定, 右声带运动尚可,