

艾灸足三里穴与关元穴对训练小鼠免疫功能的影响*

容贤冰¹, 邓武装², 蒋晓明³, 叶素英⁴, 华岩³

(1. 桂林电子科技大学体育部, 广西桂林 541004; 2. 周口师范学院体育学院, 河南周口 466000;

3. 钦州学院体育学院, 广西钦州 535000; 4. 桂林航天工业学院体育部, 广西桂林 541004)

摘要:目的 探讨艾灸足三里、关元穴对训练小鼠免疫功能的影响。方法 将 30 只雄性小鼠分为安静对照组($n=10$)、运动训练组($n=10$)、运动+艾灸组($n=10$), 后两组小鼠进行 6 周递增负荷训练, 运动+艾灸组小鼠在每次训练后 1 h 艾灸足三里、关元两个穴位, 末次训练为负重 8% 的力竭游泳训练。测定各组小鼠血 T 淋巴细胞亚群、自然杀伤细胞(NK)、自然杀伤 T(NKT) 细胞及脾脏、胸腺抗氧化酶的活性变化情况。结果 运动训练组与安静对照组相比, $CD3^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、NK、NKT、脾脏指数(SI)、胸腺指数(TI)降低($P<0.05$), 脾脏、胸腺组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)降低($P<0.05$), 丙二醛(MDA)升高($P<0.05$); 运动+艾灸组与安静对照组相比, $CD3^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、NK、NKT 降低($P<0.05$), 脾脏组织中 MDA 升高($P<0.05$), 胸腺组织中 SOD 升高($P<0.05$), CAT 降低($P<0.05$); 运动+艾灸组与运动训练组相比, $CD3^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、NK、NKT、SI、TI 升高($P<0.05$), 脾脏、胸腺组织 MDA 降低($P<0.05$), GSH-PX、SOD、CAT 升高($P<0.05$)。结论 艾灸足三里穴、关元穴可提高训练小鼠外周血 $CD3^+$ 、NK、NKT 细胞数量, 预防 $CD4^+/CD8^+$ 比值失调; 同时抑制由于训练造成的 TI、SI 的变化趋势, 增强胸腺、脾脏组织抗氧化酶的活性。提示艾灸足三里、关元穴可改善训练引起的免疫功能下降, 提高机体免疫功能。

关键词: 针灸疗法; T 淋巴细胞; 自然杀伤细胞; 胸腺; 脾脏

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.17.018

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)17-2161-03

Effect of applying moxibustion at Zusanli and Guanyuan on training rat immunologic function*

Rong Xianbing¹, Deng Wuzhuang², Jiang Xiaoming³, Ye Suying⁴, Hua Yan³

(1. Department of Physical Education, Guilin University of Electronic Technology, Guilin, Guangxi, 541004, China;

2. Department of Physical Education, Zhou Kou Normal University, Henan Zhoukou 466000, China;

3. Department of Physical Education, Qinzhou University, Qinzhou, Guangxi 535000, China;

4. Department of Physical Education, Guilin University of Aerospace Technology, Guilin, Guangxi 541000, China)

Abstract: Objective To study the effect of applying moxibustion at Zusanli and Guanyuan on training immunologic function.

Methods 30 male rats were randomly divided into the sedentary control group ($n=10$), training group ($n=10$), training plus moxibustion group ($n=10$), the six-week progressively increasing load training was carried out in the training group and the training plus moxibustion group, the rats in the training plus moxibustion group were given the 1 h moxibustion at the points of Zusanli and Guanyuan after each training and the exhaustive swimming with 8% of bear load was done in the last training. Then rats were killed after exhaustion for detecting the partial immune indexes in peripheral blood, thymus and spleen, and the activities of antioxidant enzymes. **Results** Compared with sedentary control group, the ratio of peripheral blood $CD3^+$, $CD4^+/CD8^+$, NK, NKT, index of spleen and thymus in the training group were significantly decreased ($P<0.05$), the content of MDA in spleen and thymus tissues were significantly increased ($P<0.05$), GSH-PX, SOD, CAT activities were decreased significantly ($P<0.05$); when compared with training group, peripheral blood $CD3^+$, $CD4^+/CD8^+$, NK, NKT, the index of spleen and thymus in the training plus moxibustion group were significantly increased ($P<0.05$); the index of spleen and thymus is significantly increased ($P<0.05$), the content of MDA in spleen and thymus tissues were obviously decreased, GSH-PX, SOD, CAT were greatly increased ($P<0.05$). **Conclusion**

Applying moxibustion at Zusanli and Guanyuan can increase the content of peripheral blood $CD3^+$, NK, NKT, prevent the ratio of $CD4^+/CD8^+$ from being imbalance, simultaneously inhibit the trends of changing in the index of thymus and spleen by the result of training and enhance the activity of antioxidant enzymes in thymus and spleen tissues, which implies that the moxibustion at Zusanli and Guanyuan can improve the immune function decline induced by the training and enhance the immune capacity of organism.

Key words: acupuncture-moxibustion; T lymphocyte subsets; natural killer cells; thymus; spleen

大强度或激烈运动会降低运动员免疫力, 表现为运动能力下降, 对疾病的防御能力降低, 如何提高大强度运动后运动员的免疫功能, 是众多运动医学研究者共同关注的重点。艾灸疗法是我国悠久的保健方法之一。已有研究表明, 艾灸不同穴位可以起到抗氧化、延年益寿的作用, 对大强度训练后肾脏的自

由基清除也有一定的疗效^[1-3]。到目前为止, 艾灸能否改善过度训练导致的运动性免疫抑制报道较少, 本研究拟通过建立小鼠大强度训练模型, 探讨艾灸对训练后小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群、自然杀伤细胞(NK)、自然杀伤 T 细胞(NKT) 数量及脾脏、胸腺抗氧化能力的影响, 为穴位艾灸法在竞技体育训练

表 1 各组小鼠 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、NKT($\bar{x}\pm s$)

组别	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK(%)	NKT(%)	SI	TI
A 组	51.59±4.37	1.79±0.27	8.17±1.73	8.19±1.64	3.53±0.68	0.27±0.07
B 组	31.99±4.63 [▲]	1.61±0.71 [▲]	6.89±1.92 [▲]	6.07±1.35 [▲]	3.14±0.54 [▲]	0.21±0.09 [▲]
C 组	33.59±5.26* [▲]	1.66±0.88* [▲]	7.43±1.64* [▲]	7.59±2.07* [▲]	3.51±0.77*	0.26±0.04*

▲: $P < 0.05$, 与 A 组比较; *: $P < 0.05$, 与 B 组比较。

表 2 各组小鼠脾脏、胸腺组织 MDA 含量、GSH-PX、SOD、CAT($\bar{x}\pm s$)

项目	A 组(脾脏)	B 组(脾脏)	C 组(脾脏)	A 组(胸腺)	B 组(胸腺)	C 组(胸腺)
MDA	4.73±0.58	7.72±1.29 [▲]	5.22±0.88* [#]	2.94±0.47	4.22±0.79 [▼]	2.83±0.57 [○]
GSH-PX	31.44±1.82	26.16±1.09 [▲]	30.28±1.85*	22.88±3.86	20.01±2.33 [▼]	24.87±3.34 [○]
SOD	66.01±4.37	60.79±3.92 [▲]	67.33±4.98*	18.33±2.63	22.59±2.47 [▼]	29.27±3.07 [■]
CAT	4.77±0.75	3.09±0.61 [▲]	4.52±1.08*	1.84±0.16	0.98±0.07 [▼]	1.11±0.13 [■]

▲: $P < 0.05$, 与 A 组(脾脏)比较; *: $P < 0.05$, 与 B 组(脾脏)比较; #: $P < 0.05$, 与 A 组(腺脏)比较; ▼: $P < 0.05$, 与 A 组(胸腺)比较; ○: $P < 0.05$, 与 B 组(胸腺)比较; ■: $P < 0.05$, 与 A 组(腺脏)比较。

中的应用和推广提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 昆明雄性小鼠 30 只, 8 周龄(体质量 18~20 g)。小鼠 5 只一笼饲养, 自由进食、进水。动物饲养室自然昼夜规律照明, 温度(28±2)℃, 湿度 50%~60%。

1.2 仪器与试剂 动物游泳缸自制; Epics-XL 流式细胞仪和 Q-Prep 流式细胞仪、标本制备仪购自美国贝克曼公司; CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 单克隆抗体购自武汉新启迪生物有限公司; TGL-16G 台式高速冷冻离心机购自北京沃德生物医学仪器公司; FSH-2 高速电动匀浆机购自北京瑞丽分析仪器公司; 丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)试剂盒均购自南京建成生物有限公司; 无烟艾粒购自南阳汉医艾绒厂。

1.3 实验分组及训练方案 小鼠适应喂养 1 周后, 按体质量分为安静对照组(A 组, $n=10$)、运动训练组(B 组, $n=10$)、运动+艾灸组(C 组, $n=10$)。B 组、C 组小鼠先进行 3 d 适应性游泳训练, 后采用 6 周的递增负荷强度训练(每周 6 d, 起始周游泳时间为 30 min/d, 之后每周增加 10 min, 至第 6 周游泳至 90 min/d, 末次训练为负重 8% 的力竭游泳训)。安静对照组进行正常的生理活动。

1.4 艾灸方案 艾灸时间为游泳后间隔 1h, 艾灸方法依据参考文献[3]。

1.5 方法 T 淋巴细胞亚群、NK、NKT 细胞数的测定: 力竭游泳结束后, 肝素真空采血针抽取小鼠腹部主静脉血, 流式管中加入 100 μ L 抗凝血, 后加入 20 μ L 抗体, 室温避光孵育 1 h, 溶红细胞后放入恒温器 20 min, 1 200 r/min 离心 15 min, 取上清液, 生理盐水洗 2 次, 1 200 r/min 离心 5 min 后, 采用流式细胞仪测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK、NKT 细胞数。胸腺、脾脏指数的测定: 小鼠断颈处死后, 取出脾脏、胸腺, 洗净称重计算脾脏指数(SI)与胸腺指数(TI)。

1.6 统计学处理 采用 SPSS13.0 进行统计分析, 计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较进行单因素方法分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺ 的值及 NK、NKT 比较

与 A 组相比, B 组、C 组 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比值、NK、NKT 均显著降低($P < 0.05$), B 组 SI、TI 显著降低($P < 0.05$); 与 B 组相比, C 组 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、NKT、SI、TI 均显著升高($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 各组小鼠脾脏、胸腺组织中 MDA、GSH-PX、SOD、CAT 比较 与 A 组相比, B 组小鼠脾脏、胸腺组织中 MDA 含量显著升高($P < 0.05$), GSH-PX、SOD、CAT 活性均显著降低($P < 0.05$); 与 A 组相比, C 组小鼠脾脏组织 MDA 含量显著升高($P < 0.05$), 胸腺组织中 SOD 活性显著升高($P < 0.05$), CAT 活性显著降低($P < 0.05$); 与 B 组相比, C 组小鼠脾脏、胸腺组织中 MDA 含量显著降低($P < 0.05$), GSH-PX、SOD、CAT 均显著升高($P < 0.05$), 见表 2。

3 讨 论

CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、NKT 是免疫细胞中重要的检测指标。CD3⁺ 分布于成熟的 T 淋巴细胞表面, 发挥辅助和诱导作用, CD8⁺ 发挥杀伤和抑制作用。CD4⁺/CD8⁺ 的值在一定范围内上升, 表明免疫应答中的正调节占优势。NK 具有自然杀伤的能力, 在抗肿瘤、抗病毒感染等免疫调节中起到重要作用, NKT 细胞的表面既有 T 细胞受体, 又有 NK 细胞受体, 常作为反映运动后免疫功能改变的指标之一, 主要受运动强度和运动量的影响^[4]。本研究中, 训练后 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、NKT 显著降低, 表明高强度训练导致小鼠机体免疫功能下降。而艾灸足三里穴、关元穴可增加 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、NKT, 表明艾灸足三里穴、关元穴通过增加 NK、NKT 细胞数量, 改善训练小鼠的细胞免疫功能。高明等^[5] 研究认为, 艾灸能提高男子中长跑运动员大负荷运动训练期间 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞亚群的含量, 防止过度训练导致的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 等 T 淋巴细胞亚群含量的降低, 预防 CD4⁺/CD8⁺ 的比值下降。

胸腺、脾脏是机体重要的免疫器官, 大量研究已正式, 过量运动会损害机体的免疫器官, 导致脾脏、胸腺重量降低, 并发结构的变化, 使器官免疫能力降低^[6]。本研究中, 运动训练组小鼠的 SI、TI 显著性下降, 提示过度运动可能对小鼠的胸腺、脾脏构成损伤, 造成小鼠机体免疫能力下降。而艾灸足三里、关元穴可以抑制 SI、TI 的变化下降的趋势。顾长海^[7] 研究也认

为, 艾灸足三里、关元穴可以抑制 SI、TI 降低。

大强度运动会致体内自由基累积, 自由基攻击机体生物膜系统的不饱和脂肪酸, 引起生物膜的功能障碍, 加重组织损伤^[8]。MDA 是脂质过氧化产物中的一种, 是衡量机体内自由基代谢的敏感指标, GSH-PX、SOD、CAT 是常见的抗氧化酶类, 其主要作用是清除自由基。有研究证实, 大强度运动导致机体胸腺、脾脏组织中抗氧化酶活性降低, MDA 含量升高^[9]。本研究中, 训练后胸腺、脾脏组织中 GSH-PX、SOD、CAT 活性均呈现不同程度下降, 而 MDA 含量上升, 说明大强度运动使胸腺、脾脏抗氧化系统清除自由基的速率远小于自由基生成的速率。而艾灸足三里穴、关元穴能提高小鼠胸腺、脾脏组织中 GSH-PX、SOD、CAT 抗氧化酶的活性, 及时清除运动过程中产生的自由基, 阻止胸腺、脾脏组织中过氧化程度的加快, 抑制 MDA 的生成。其可能的作用机制是: (1) 与艾灸刺激的穴位有关, 关元穴的位置在任脉, 任脉的重要功能是调节阴阳气血, 其经络足三阴经与阴经脉交会, 胸腺正处于任脉上, 改善了胸腺的功能。而足三里是全身强壮穴、保健穴, 改善胃机能, 脾胃互为表里, 必然促进脾脏功能的改善。(2) 与艾灸时产生的辐射有关, 有研究表明, 艾灸时产生的辐射能为机体细胞代谢提供活力也能为能量缺乏的病态细胞提供活化能, 对损伤的细胞膜有一定的修复作用^[10], 提高胸腺、脾脏组织细胞膜的防御能力。

实验结果证明, 艾灸足三里穴、关元穴可提高训练小鼠外周血 CD3⁺、NK、NKT 细胞数量, 预防 CD4⁺/CD8⁺ 比值失调; 同时抑制由于力竭训练造成的 SI、TI 的变化趋势, 增强胸腺、脾脏组织抗氧化酶的活性, 减轻训练引起的免疫器官脂质过氧化损伤。提示艾灸足三里、关元两穴可改善力竭训练引起的免疫功能下降, 提高机体免疫能力。然而, 由于经费和实验条件的受限, 本实验未涉及小鼠恢复过程中(如小鼠恢复 12、24 h) 外周血免疫指标及免疫器官抗氧化指标的变化情况, 这将是本课题组今后的研究方向。

参考文献:

[1] 熊静宇, 肖国强, 卢艳梅. 艾灸预处理对大鼠离心运动后

(上接第 2160 页)

肾切除大鼠肾 II a 型钠-磷协同转运子基因表达的影响及司维拉姆的干预作用[J]. 中华肾脏病杂志, 2005, 21(4): 408-412.

[7] 曾鸣, 王笑云, 王小兵, 等. 高磷饮食对慢性肾衰竭大鼠肾脏 II 型转运体的影响[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2004, 24(6): 568-571.

[8] 苗华, 潘明明. 慢性肾衰竭高磷血症研究及治疗进展[J]. 中国血液净化, 2007, 6(9): 500-502.

[9] 赵学智. 血磷及钠磷协同转运子在慢性肾脏病继发性甲状旁腺技能亢进发生和发展中的作用[J]. 中华肾脏病杂志, 2005, 21(3): 172-173.

[10] Lotscher M, Wilson P, Nguyen S, et al. New aspects of adaptation of rat renal Na-Pi cotransporter to alterations in dietary phosphate[J]. Kidney Int, 1996, 49(4): 1012-1018.

[11] 曾鸣, 王笑云, 王小兵, 等. 膦甲酸钠对尿毒症大鼠甲状旁

腺肌组织的保护作用的研究[J]. 山东体育学院学报, 2010, 26(10): 56-61.

[2] 李晓玲. 艾灸涌泉、足三里、关元对运动训练大鼠抗运动疲劳的实验研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2009.

[3] 华岩, 刘斌, 张可斌. 艾灸足三里穴、关元穴对小鼠运动耐力及肾脏组织抗氧化损伤的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2012, 27(11): 1036-1041.

[4] 庄杰, 陈佩杰, 段子才, 等. 五周递增负荷训练过程中机体运动能力和免疫细胞数量的变化[J]. 中国运动医学杂志, 2009, 28(3): 255-259.

[5] 高明, 吴瑛, 李国强. 艾灸对大负荷训练期间男子中长跑运动员 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2011, 30(11): 997-1001.

[6] 帅学宏, 胡庭俊, 曾慧, 等. 山豆根多糖对免疫抑制模型小鼠免疫器官指数和自由基相关酶活性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32(2): 170-172.

[7] 顾长海. 艾灸对运动训练大鼠血乳酸、心钠素、皮质醇及脏器指数水平影响的实验研究[J]. 山东体育学院学报, 2007, 23(4): 67-69.

[8] 王之娟, 王蕴红, 梁蕾, 等. 艾灸肾俞对大鼠抗疲劳能力作用的效果观察[J]. 首都体育学院学报, 2006, 18(3): 52-53.

[9] 张怡, 正英, 池平爱, 等. 蕨麻多糖对训练大鼠免疫系统保护作用的实验研究[J]. 山东体育学院学报, 2009, 25(5): 33-35.

[10] 杨华元, 胡道成. 艾灸疗法的生物物理特征[J]. 中国针灸, 2009, 32(11): 35-37.

(收稿日期: 2013-11-08 修回日期: 2014-02-28)

腺激素及肾脏 II a 型钠磷协同转运体的影响[J]. 江苏医药, 2005, 31(5): 348-350.

[12] Nati Hernando, Serge M. Gisler, Sonja C. Reining, et al. NaPi-II a interacting proteins and regulation of renal reabsorption of phosphate[J]. Urol Res, 2010, 38(3): 271-276.

[13] 王小兵, 王笑云, 毛慧娟, 等. 人甲状旁腺组织体外培养及高磷的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22(1): 79-80.

[14] 江瑛, 王梅. PIT-1 在高磷血症导致慢性肾衰竭大鼠血管钙化中的表达[J]. 中国血液净化, 2009, 8(6): 326-330.

[15] Hirota Y, Yuji Y, Tomoko M, et al. Incisor enamel formation is impaired in transgenic rats overexpressing the type III NaPi transporter Slc20a1[J]. Calcif Tissue Int, 2011, 89(3): 192-202.

(收稿日期: 2013-10-08 修回日期: 2014-02-03)