# 基于AMPK/mTOR信号水平探讨针药结合对帕金森病小鼠线粒体自噬的影响

周丹[1a,2]，祁羚[1a]，李亚楠[1a]，汪瑶[1b]，马骏[1a]（1. 湖北中医药大学，a. 针灸骨伤学院，b. 体育健康学院，湖北 武汉 430060；2. 武汉市第三医院/武汉大学附属同仁医院科教科，湖北 武汉 430060）

[摘要] **目的**：基于AMPK/mTOR通路，观察电针结合镇肝熄风汤中药方对帕金森病（Parkinson's disease，PD）小鼠线粒体自噬的影响及可能机制。**方法**：C57BL/6小鼠随机分为对照组、模型组、电针组、中药组、针药组，每组12只。采用鱼藤酮灌胃制备PD模型。电针组小鼠给予电针治疗，每日1次，每次30 min，连续2周。中药组给予镇肝熄风汤中药煎剂灌胃25 g·kg$^{-1}$·d$^{-1}$。针药组给予中药灌胃25 g·kg$^{-1}$·d$^{-1}$结合电针治疗。通过爬杆试验和后肢评分评估各组小鼠的运动能力；透射电镜观察线粒体形态变化；免疫组织化学法检测各组小鼠中脑黑质TH、α-syn阳性表达；免疫荧光染色法检测小鼠中脑黑质LC3的阳性表达；Western blot法检测小鼠中脑黑质p-AMPK/AMPK、p-mTOR/mTOR蛋白含量。**结果**：与对照组比较，模型组小鼠爬杆试验总用时增加、后肢评分升高（$P<0.01$）；中脑黑质TH、LC3阳性表达减少（$P<0.05$），α-syn阳性表达增加（$P<0.05$）；中脑黑质p-mTOR/mTOR比值升高（$P<0.05$），p-AMPK/AMPK降低（$P<0.05$）。与模型组比较，各治疗组上述指标均显著改善（$P<0.05$）。针药组在增加中脑黑质TH、LC3、p-AMPK/AMPK及降低α-syn、p-mTOR/mTOR方面优于电针组或中药组（$P<0.05$）。**结论**：电针结合镇肝熄风汤中药方可能通过调控中脑黑质AMPK/mTOR介导的线粒体自噬，清除中脑黑质异常聚集的α-syn，改善线粒体损伤，起到保护PD小鼠神经元的作用。

[关键词] 帕金森病；镇肝熄风汤；电针；腺苷单磷酸活化蛋白激酶
[中图分类号] R285.5；R932 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213（2026）17-1993-07 DOI：10.13286/j.1001-5213.2026.17.05

## Effect of electroacupuncture combined with traditional Chinese medicine on mitophagy in mice with Parkinson's disease via AMPK/mTOR signaling

ZHOU Dan[1a,2], QI Ling[1a], LI Yanan[1a], WANG Yao[1b], MA Jun[1a] (1a. College of Acupuncture-Moxibustion and Orthopaedics-Traumatology, 1b. College of Physical Education and Health, Hubei University of Chinese Medicine, Hubei Wuhan 430060, China; 2. Department of Science and Education, Wuhan Third Hospital·Tongren Hospital of Wuhan University, Hubei Wuhan 430060, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To evaluate the effect and potential mechanism of action of electroacupuncture (EA) combined with Zhengan Xifeng Decoction (ZGXFD) on mitophagy in mice with Parkinson's disease (PD) via the adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. **METHODS** C57BL/6 mice were randomly divided into the control, model, EA, traditional Chinese medicine (TCM), and EA-TCM groups, with 12 mice per group. PD was induced in mice by intragastric administration of rotenone solution. Animals in the EA group received EA once daily for 30 minutes per session, for 2 consecutive weeks. The TCM group was given an intragastric administration of GZXFD at a dose of 25 g·kg$^{-1}$·d$^{-1}$. The EA-TCM group was given a combination of intragastric GZXFD administration and EA. Motor function of mice in each group was evaluated by the pole test and hindlimb scoring. Morphological changes in the mitochondria were examined by transmission electron microscopy (TEM). TH and α-syn positivity in the midbrain substantia nigra of mice was determined using immunohistochemistry (IHC), whereas LC3 positivity was detected by immunofluorescence staining. Protein expression levels of p-AMPK/AMPK and p-mTOR/mTOR in the midbrain substantia nigra of mice were quantified Western blot. **RESULTS** Compared with the control group, the model group had prolonged total time in the pole test and increased hindlimb function scores (both $P<0.01$), as well as decreased TH and LC3 positivity and increased α-syn positivity in the midbrain substantia nigra (all $P<0.05$), along with upregulated p-mTOR/mTOR and downregulated p-AMPK/AMPK protein levels (both $P<0.05$). Compared with the model group, all treatment groups showed significant improvements in the above parameters (all $P<0.05$). Furthermore, the EA-TCM group had higher levels of TH, LC3, and p-AMPK/AMPK and lower levels

[基金项目] 武汉市中医药科研项目（编号：WZ24B31）；国家自然科学基金项目（编号：82405575）；武汉市科技局知识创新专项（编号：2023020201020794） [作者简介] 周丹，女，在读博士，主治医师，研究方向：针灸防治脑病及神经系统疾病 [通信作者] 马骏，女，博士研究生，主任医师，博士研究生导师，研究方向：针灸防治脑病及神经系统疾病

of α-syn and p-mTOR/mTOR in the midbrain substantia nigra (all $P<0.05$) compared with either the EA group or TCM group. **CONCLUSION** EA combined with ZGXFD may exert neuroprotective effects in PD mice by regulating AMPK/mTOR-mediated mitophagy in the midbrain substantia nigra, eliminating abnormally aggregated α-syn and alleviating mitochondrial injury.
**KEY WORDS:** Parkinson's disease; Zhengan Xifeng Decoction; electroacupuncture; adenosine monophosphate-activated protein kinase

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种神经退行性疾病,其主要病理特征是α-突触核蛋白(α-synuclein, α-syn)异常聚集和黑质多巴胺(dopamine, DA)能神经元变性坏死[1-2]。研究表明,线粒体自噬与PD的发病密切相关[3-4],线粒体自噬可通过清除PD动物模型中脑黑质的α-syn保护DA神经元[5-6]。腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)是线粒体内感知能量的传感器[7-8],人类PD脑组织中AMPK表达显著降低。mTOR作为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的成员之一,在细胞内发挥着维持能量状态、促进合成代谢的作用[9-10],参与线粒体自噬的启动、清除与降解受损的线粒体全过程。AMPK/mTOR是调控线粒体自噬的关键信号分子,二者在PD病理过程中表达失衡,影响受损线粒体的清除,从而加速多巴胺能神经元的丢失。

当前PD的治疗策略中,针药结合显示出独特的临床潜力[11],但其作用机制,尤其是中药在联合疗法中的协同效应尚缺乏深入的实验阐释。本研究以AMPK/mTOR通路介导的线粒体自噬为切入点,通过设置电针、镇肝熄风中药方、电针与镇肝熄风中药方结合3种干预方式,对比观察三者对PD小鼠中脑黑质自噬关键指标及运动行为学的影响。旨在揭示针药结合疗法发挥神经保护作用的潜在机制,以期为优化PD的治疗方案提供新的实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器** 一次性无菌针灸针(0.16 mm×7 mm,吴江市神灵医疗器械有限公司);SDZ-Ⅲ电针仪(苏州医疗用品厂有限公司);脱水机、包埋机(武汉俊杰电子有限公司);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);显微镜(日本尼康公司);抗原修复用电陶炉(德国SKG公司);Multiskan FC型酶标仪(美国赛默飞世尔科技公司);垂直电泳槽(北京六一仪器厂);水平摇床(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司)。

**1.2 药物及试剂** 镇肝熄风中药方药物组成如下:怀牛膝30 g、生赭石30 g、龙骨15 g、牡蛎15 g、龟甲15 g、白芍15 g、天冬15 g、玄参15 g、川楝子6 g、甘草6 g、生麦芽6 g、茵陈6 g。水煎熬成100 mL药液。先将约为药材量10倍的水浸泡30 min,然后大火煮沸转小火熬30 min,将水煎2次的药汁合并,浓缩至3.0 g·mL$^{-1}$。小鼠灌胃药液的剂量按照人/鼠千克体质量的等效剂量计算。

α-syn、TH(10842-1-AP、25859-1-AP,武汉三鹰生物技术有限公司);P-AMPK(AF3423,美国Affinity公司);AMPK(2532S,美国CST公司),HRP标记物羊抗兔/小鼠二抗(BA1051,武汉博士德生物工程有限公司);鱼藤酮(批号R105076,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);氯仿(批号10006818,上海沪试实验室器材股份有限公司)。

**1.3 动物与分组** SPF级C57BL/6雄性小鼠60只,体质量(24±3)g,7～8周龄,河南斯克贝斯生物科技股份有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(豫)2020-0005。小鼠饲养于22～24 ℃、70%湿度环境中,12 h/12 h光暗循环,适应性饲养1周。按随机数字表法将小鼠分为对照组、模型组、电针组、中药组和针药组,每组12只。实验方案及规程符合湖北中医药大学医学与动物伦理审查委员会审查标准,批准号:HUCM-16104812。

**1.4 模型制备方法** 将鱼藤酮溶于4%羧甲基纤维素和1.25%氯仿溶液的混合液中,按10 mg·kg$^{-1}$·d$^{-1}$剂量连续灌胃28 d[12]。对照组小鼠同一时间抓取并灌胃等体积生理盐水。造模过程中通过爬杆试验和后肢评分的评估,判断是否造模成功。采用随机数字表法将造模成功的小鼠均衡地分配至模型组、电针组、中药组和针药组,每组最终样本量为12,且各组间基线行为学水平无统计学差异。

**1.5 干预方法** 中药组给予镇肝熄风汤25 g·kg$^{-1}$·d$^{-1}$灌胃[11],连续给药2周。电针组将小鼠穿戴自制拘束衣固定后给予电针,取穴参照《实验针灸学》[13]小鼠穴位图谱定位,穴位消毒后选取"风府""太冲""足三里"[14]。"风府"位于寰枕关节背侧凹陷;"太冲"位于后肢足背第12跖骨间凹陷处;"足三里"位于膝关节外侧,腓骨小头下2 mm。采用直刺法,"风府"进针深度为1～2 mm,双"太冲"进针深度为1 mm,"足三里"进针深度为6～8 mm。电针仪针

柄接电针仪，正极接“风府”，负极接“太冲”，采用连续波，频率 2 Hz，电流强度 1 mA，电压 1.6 V，以局部颤动为佳，每次 30 min，每日 1 次，连续治疗 2 周。“风府”为固定用穴，“太冲”“足三里”隔日左右交换使用。针药组在灌胃后给予电针干预，方法及时间与电针组一致。对照组和模型组给予同样的抓取固定，不进行干预。

### 1.6 观察指标及检测方法

#### 1.6.1 小鼠行为学检测

（1）爬杆试验：造模及 2 周的针药干预结束后，对各组小鼠进行爬杆试验[15]。采用直径 1.5 cm、长 0.5 m 的亚克力竖杆，杆身缠绕纱布增加摩擦力，杆底铺垫软质垫料以防小鼠跌落摔伤。试验时将小鼠置于杆端，待其抓握稳定后计时，记录小鼠从杆顶爬至杆底的用时。整理各组数据用于后续行为学分析。

（2）后肢评分：参照 Zhao 等[16]的方法，将小鼠的尾巴中间部分轻轻提起，使其保持 5～10 s 悬空，并观察小鼠后肢的紧抱反应。根据小鼠后肢向内紧抱的程度，将评分标准分为以下 4 个等级：0 分，后肢未表现出向内紧抱，能够自由活动；1 分，后肢部分向内紧抱，但仍保留一定活动能力；2 分，后肢明显向内紧抱，但仍具有一定的灵活性；3 分，后肢立即向内紧抱，且紧抱程度最大。详细记录每只小鼠的评分结果，用于后期运动功能的定量分析。

#### 1.6.2 透射电镜观察小鼠中脑黑质线粒体结构

各组取 1 $mm^3$ 大小黑质组织置于电镜固定液中固定，经漂洗、固定、漂洗、染色、脱水、包埋、切片后用透射电镜观察组织超微结构的变化。

#### 1.6.3 免疫组织化学法检测小鼠中脑黑质 TH、α-syn 阳性表达

取中脑黑质依次经梯度乙醇脱水、浸蜡、包埋、切片（厚度 4 μm）处理。组织片放入 60 ℃烤片 3 h 后经梯度脱蜡、抗原修复，滴加山羊血清，室温封闭 30 min。滴加 TH 一抗（1∶500）、α-syn 一抗（1∶200）4 ℃湿盒中孵育过夜（15 h），滴加 HRP 标记的山羊抗兔/鼠二抗（1∶2 000），37 ℃孵育 30 min；添加显色液，复染、脱水、封片，直至晾干。显微镜下采集图像，用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算平均吸光度值。

#### 1.6.4 免疫荧光染色法检测小鼠中脑黑质 LC3 阳性表达

将上述切片脱蜡、抗原修复，山羊血清封闭 30 min。滴加一抗 LC3（1∶100）孵育过夜，加 CY3 标记的羊抗兔 IgG 二抗（1∶100）孵育 1 h，滴加 DAPI 避光孵育 5 min，PBST 洗去多余的 DAPI。最后用含抗荧光淬灭剂的封片液封片，显微镜下采集图像，用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算荧光强度。

#### 1.6.5 Western blot 法检测小鼠中脑黑质 p-AMPK/AMPK、p-mTOR/mTOR 蛋白含量

取适量小鼠黑质组织加入 RIPA 裂解液匀浆、离心后取上清，BCA 法定量，制备蛋白样品。电泳检测，5% 脱脂奶粉封闭 2 h，洗膜后加一抗 AMPK（1∶1 000）、p-AMPK（1∶1 000）、mTOR（1∶1 000）、p-mTOR（1∶4 000）和内参蛋白 β-actin（1∶10 000），4 ℃摇床孵育过夜，加入二抗（1∶10 000）室温孵育 2 h。使用 ECL 显影液检测蛋白，凝胶成像仪采集图像，ImageJ 软件测定条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白 β-actin 条带灰度值比值作为目的蛋白的相对表达量。

### 1.7 统计学处理

采用 GraphPad Prism 10.1 进行实验数据统计分析和制图，数据符合正态分布，以 $\bar{x}\pm s$ 表示。方差齐的数据多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD 检验；方差不齐的数据多组间比较采用校正单因素方差分析（Welch 检验），组间两两比较采用 Games-Howell 检验。不符合正态分布的数据采用中位数（四分位数）[$M(P_{25},P_{75})$]描述数据分布的集中和离散趋势，组间比较采用非参数 Kruskal Wallis（$K$-$W$）检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠行为学检测

与对照组比较，模型组小鼠爬杆试验总时间延长、后肢评分升高（$P<0.01$）；与模型组比较，各治疗组小鼠爬杆试验总时间缩短、后肢评分降低（$P<0.01$）；与电针组比较，针药组小鼠爬杆试验总时间缩短（$P<0.01$）。见表 1。

**表 1 各组小鼠爬杆试验和后肢评分的比较（$n$=12）**

Tab 1 Comparison of pole test and hindlimb scores among groups（$n$=12）

| 组别 | 爬杆试验/s（$\bar{x}\pm s$） | 后肢评分/分[$M(P_{25},P_{75})$] |
|---|---|---|
| 对照组 | 6.00±0.39 | 0.00（0.00，0.00） |
| 模型组 | 19.00±0.60[a] | 2.00（2.00，3.00）[a] |
| 电针组 | 10.75±0.51[b] | 1.00（1.00，1.00）[b] |
| 中药组 | 9.42±0.47[b] | 0.50（0.00，1.00）[b] |
| 针药组 | 7.67±0.36[bc] | 0.00（0.00，1.00）[b] |
| $F$（H） | 113.556 | 42.509 |
| $P$ | <0.01 | <0.01 |

注（note）：与对照组比较（*vs.* Control group），[a]$P<0.01$；与模型组比较（*vs.* Model group），[b]$P<0.01$；与电针组比较（*vs.* EA group），[c]$P<0.01$。

### 2.2 各组小鼠中脑黑质线粒体超微结构变化

对照组小鼠中脑黑质细胞器结构完整，细胞核形态正

常，核膜完整，线粒体嵴明显，未出现断裂现象；模型组线粒体嵴断裂明显，组织内出现明显空泡，细胞器溶解明显；电针组及中药组线粒体损伤得到不同程度修复，肿胀程度缓解，嵴结构部分恢复，膜完整性改善，空泡化减少；针药组肿胀基本消退，形态规则，嵴结构清晰，排列整齐，线粒体膜完整连续，偶见轻度嵴损伤。见图1。

**2.3　各组小鼠中脑黑质TH、α-syn阳性表达的比较**　小鼠中脑黑质TH、α-syn阳性表达组间差异存在统计学意义（$F$=11.468，130.633，$P$<0.01）。与对照组比较，模型组小鼠中脑黑质TH阳性表达减少，α-syn表达增加（$P$<0.05）；与模型组比较，电针组、中药组和针药组中脑黑质TH阳性表达增多，α-syn表达减少（$P$<0.05）；与电针组比较，针药组中脑黑质TH阳性表达增多，α-syn表达减少（$P$<0.05）；与中药组比较，针药组中脑黑质TH阳性表达增多（$P$<0.05）。见图2、图3。

**2.4　各组小鼠中脑黑质LC3阳性表达的比较**　小鼠中脑黑质LC3阳性表达组间差异存在统计学意义（$F$=10.931，$P$<0.01）。与对照组比较，模型组小鼠中脑黑质自噬标志物LC3阳性表达减少（$P$<0.05）；与模型组比较，电针组、中药组、针药组的LC3阳性表达增加（$P$<0.05）；与电针组比较，针药组LC3阳性表达增加（$P$<0.05）；与中药组比较，针药组LC3阳性表达增加（$P$<0.05）。见图4。

**2.5　各组小鼠中脑黑质AMPK、mTOR蛋白相对磷酸化水平**　小鼠中脑黑质AMPK、mTOR蛋白相对磷酸化水平组间差异有统计学意义（$F$=48.374，72.388，$P$<0.01）。与对照组比较，p-AMPK/AMPK水平降低、p-mTOR/mTOR水平升高（均为$P$<0.05）；与模型组比较，电针组、中药组、针药组p-AMPK/AMPK水平显著升高、p-mTOR/mTOR水平显著降低（均为$P$<0.05）；与电针组比较，针药组p-AMPK/AMPK水平显著升高、p-mTOR/mTOR水平显著降低（均为$P$<0.05）；与中药组比较，针药组p-AMPK/AMPK水平显著升高、p-mTOR/mTOR水平显著降低（均为$P$<0.05）。见图5。

## 3　讨论

中医认为，PD的基本病机多为肝肾阴虚、气血

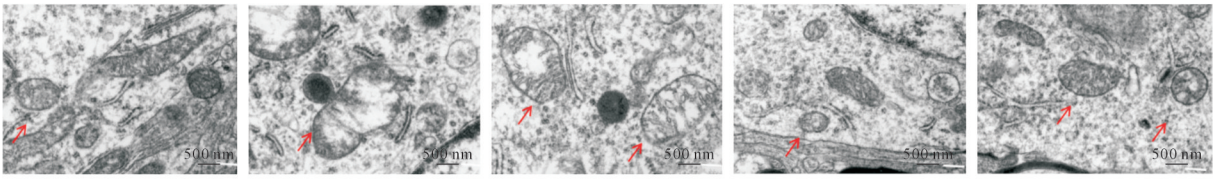



图1　各组超微结构变化

Fig 1　Ultrastructural changes in each group

注（note）：红色箭头所示为线粒体（Red arrows indicate mitochondria）。

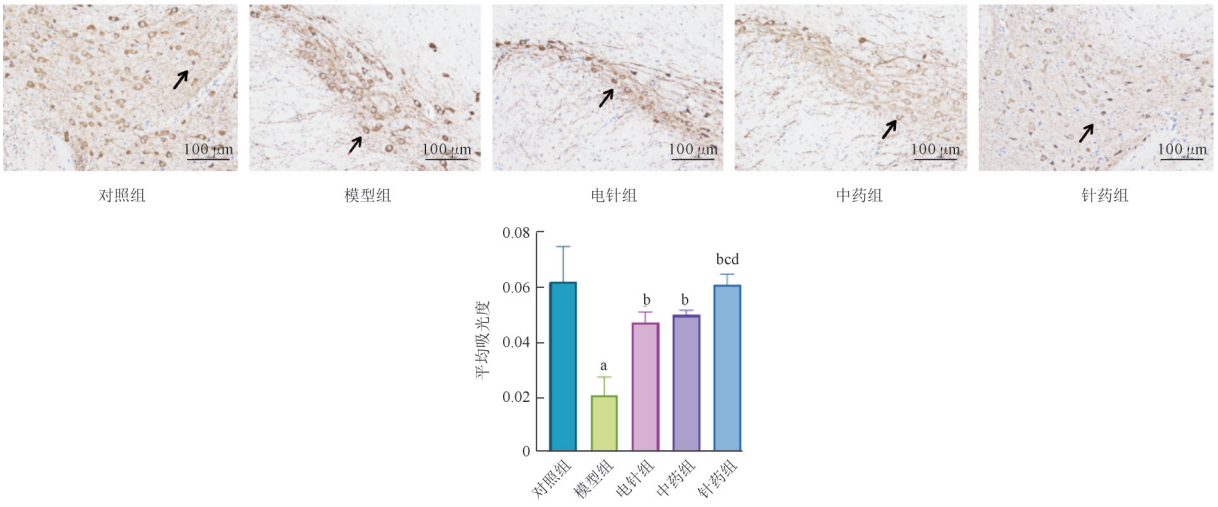



图2　各组小鼠中脑黑质TH阳性表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）

Fig 2　Comparison of TH positive expression in the substantia nigra of mice among groups（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）

注（note）：黑色箭头所示棕黄色和褐色区域为中脑黑质TH的阳性表达（The brownish-yellow and brown areas indicated by black arrows represent the positive expression of TH in the substantia nigra of the midbrain）。与对照组比较（*vs.* Control group），$^{a}P$<0.05；与模型组比较（*vs.* Model group），$^{b}P$<0.05；与电针组比较（*vs.* EA group），$^{c}P$<0.05；与中药组比较（*vs.* TCM group），$^{d}P$<0.05。

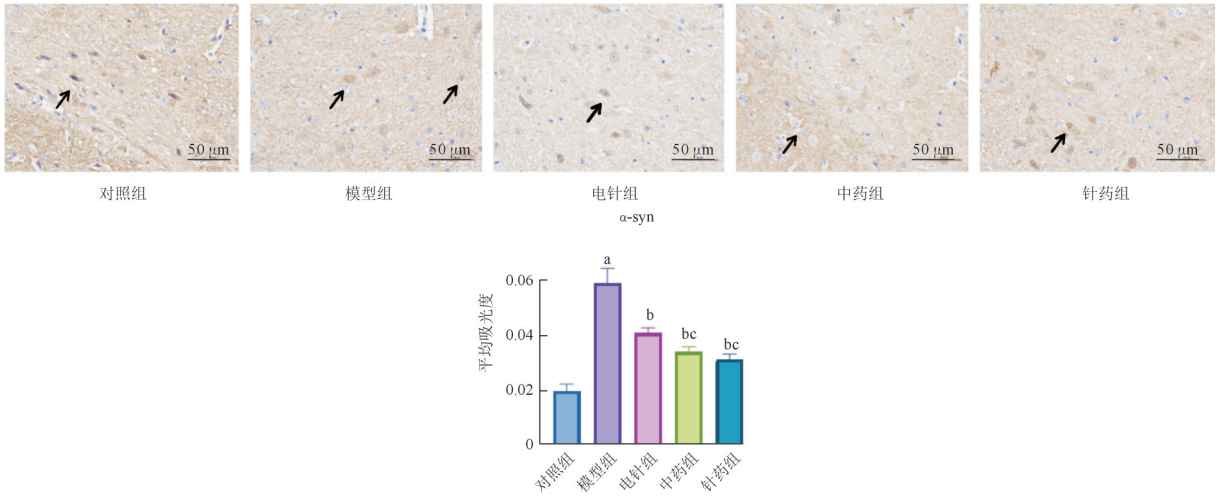



图3　各组小鼠中脑黑质α-syn阳性表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）

Fig 3　Comparison of α-syn positive expression in the substantia nigra of mice among groups（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）

注（note）：黑色箭头所示棕褐色区域为中脑黑质α-syn的阳性表达（Brown areas indicated by black arrows represent positive expression of α-syn in the substantia nigra）。与对照组比较（*vs.* Control group），$^{a}P<0.05$；与模型组比较（*vs.* Model group），$^{b}P<0.05$；与电针组比较（*vs.* EA group），$^{c}P<0.05$。

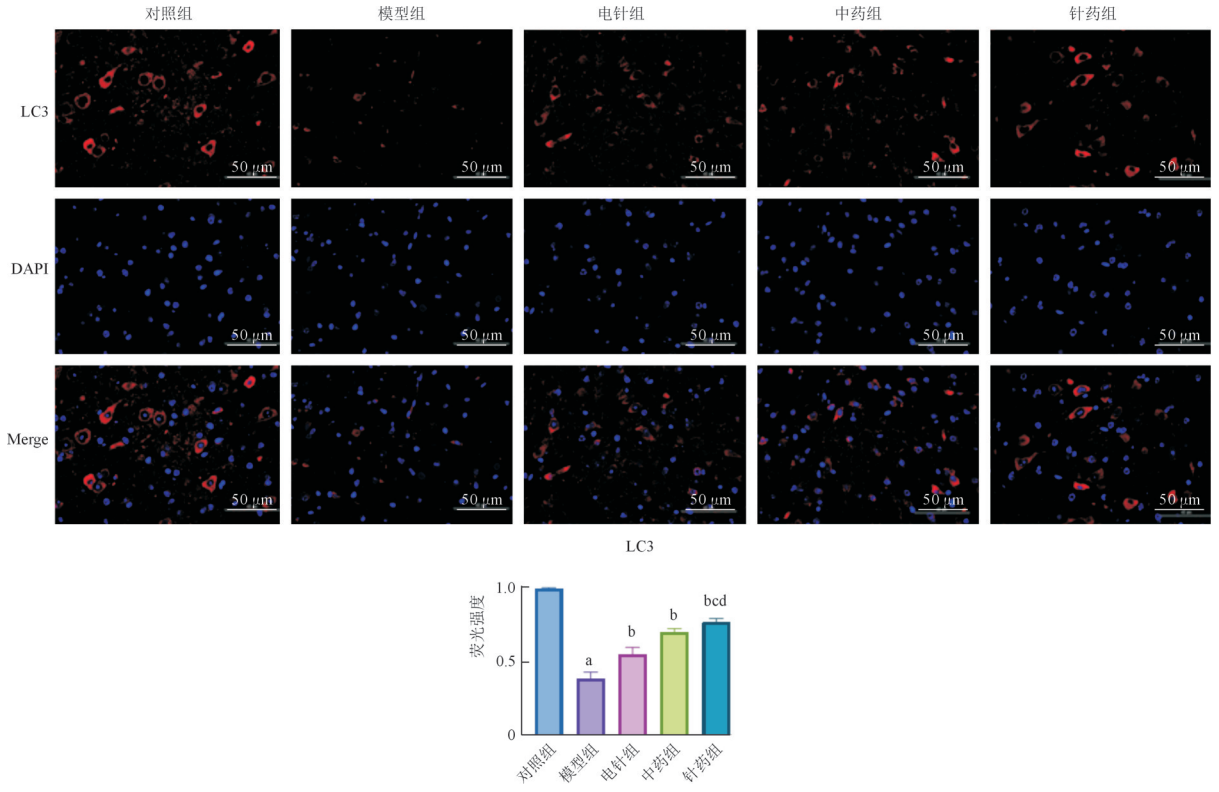



图4　各组小鼠中脑黑质LC3阳性表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）

Fig 4　Comparison of LC3 positive expression in the substantia nigra of mice among groups（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）

注（note）：与对照组比较（*vs.* Control group），$^{a}P<0.05$；与模型组比较（*vs.* Model group），$^{b}P<0.05$；与电针组比较（*vs.* EA group），$^{c}P<0.05$；与中药组比较（*vs.* TCM group），$^{d}P<0.05$。

不足，导致肝风内动、经脉失养，病灶在筋脉，与肝脾肾紧密相关。本研究选取风府、太冲、足三里三穴相配，共成熄风通络、疏肝止痉、健脾益气之效。风府穴属督脉，是“风之要穴”，能散风熄风、通关开窍。太冲穴是肝经原穴，《针灸甲乙经》载“肝经所注为输”，具有疏肝理气、熄风止痉的功效。《针灸大成》载“五脏六腑之海，主化气血以充先天”，足三里穴能健脾益气、调和气血。镇肝熄风汤源于清代张锡纯的《医学衷中参西录》[17]，方中怀牛膝性寒辛苦，活血化瘀，滋补肝肾；生赭石平肝镇逆；龟甲、龙骨、牡蛎、白芍，滋阴益阳，潜肝熄风；天冬、玄参养阴滋肾；生麦芽、茵陈、川楝子清阳调肝解郁、甘草

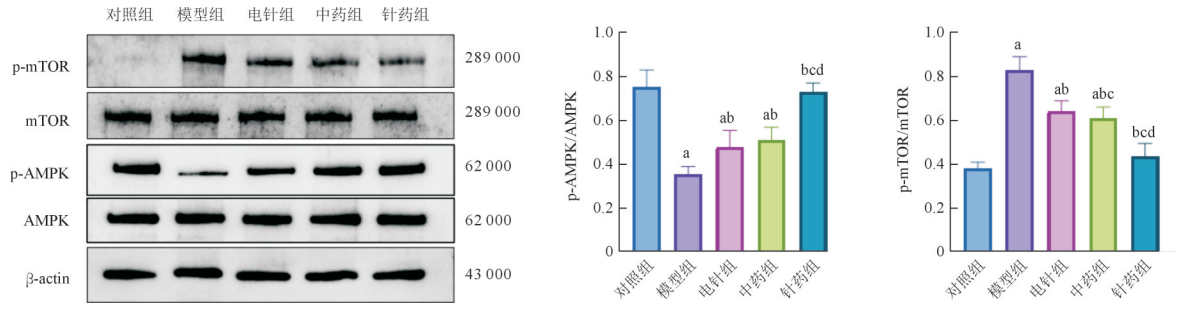



图5　各组小鼠中脑黑质p-AMPK/AMPK、p-MTOR/mTOR表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）

Fig 5　Comparison of p-AMPK/AMPK and p-MTOR/mTOR expression levels among groups（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）

注（note）：与对照组比较（*vs.* Control group），$^{a}P<0.05$；与模型组比较（*vs.* Model group），$^{b}P<0.05$；与电针组比较（*vs.* EA group），$^{c}P<0.05$；与中药组比较（*vs.* TCM group），$^{d}P<0.05$。

调和诸药[18]。全方共奏滋肝肾之阴、潜上亢之阳之功。本研究选用电针与镇肝熄风汤联用，旨在通过针药结合实现标本兼治、镇肝熄风、滋阴潜阳，相较于既往研究单一电针治疗[19-20]或单一中药治疗[11]，更能突出中医综合特色与优势。

TH作为DA能神经元的特异性标志物，其表达水平可直接反映DA能神经元的活性与损伤情况[21]；而α-syn异常聚集是诱发PD的关键因子[22]。本研究结果显示，模型组小鼠中脑黑质TH阳性表达显著减少，α-syn阳性表达显著增加，表明PD模型构建成功。经不同方式干预后，针药组小鼠中脑黑质TH阳性表达显著升高，α-syn阳性表达显著降低，且改善程度优于单一电针组或中药组。这一结果提示，电针结合镇肝熄风汤可有效减轻α-syn的异常聚集，保护DA能神经元，且二者联用具有协同增效作用。

线粒体自噬是细胞选择性清除受损线粒体、维持线粒体稳态和细胞功能关键机制，其功能不足与PD发生发展密切相关[23]。AMPK/mTOR介导的线粒体自噬是调控线粒体自噬的关键信号轴，其具体过程是当线粒体受损时，AMPK感知到细胞内的能量危机并被激活，激活的AMPK通过磷酸化mTOR从而抑制mTOR活性[24]，而mTOR是自噬启动的上游负调控因子[25]，其活性抑制可启动线粒体自噬，促进受损线粒体清除。LC3-Ⅱ是自噬体膜的关键标志蛋白，它能够影响自噬体与溶酶体成功融合，导致受损线粒体和蛋白质聚集体堆积，引发氧化应激和炎症，最终导致DA能神经元凋亡和PD进展。本研究结果显示，模型组经干预后，各治疗组均不同程度上调p-AMPK/AMPK，降低p-mTOR/mTOR，鉴于AMPK/mTOR通路是调控线粒体稳态的核心上游枢纽，其活化提示各治疗组可能通过启动下游的线粒体生物合成与自噬程序，从而改善鱼藤酮诱导的线粒体功能障碍，最终改善PD小鼠运动功能，且针药组效果优于单一中药组或电针组。这一结果与临床观察中针药结合疗效优于单一疗法的结论相呼应，也从分子层面为针药协同增效提供了直接证据。

综合以上结果，本研究表明电针“风府”“太冲”“足三里”联合镇肝熄风汤可改善PD小鼠运动功能障碍。针药结合疗法在各项观测指标上均显示出优于单一疗法的趋势，提示其具有协同增效作用，这为PD的治疗策略提供了新的实验依据。然而，针药协同作用机制复杂，涉及多靶点、多通路的综合调控。未来研究可借鉴AMPK抑制剂干预的实验设计、结合代谢组学分析以及临床研究验证针药结合治疗PD的有效性与安全性，为优化PD治疗方案提供更充分的科学依据。

**参考文献：**

[1] 何彦虎，金华，刘志军，等. 基于“肠-脑”通路探讨帕金森病的发病机制的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志，2021，37（23）：3290-3294.
He YH，Jin H，Liu ZJ，*et al*. Current situation of exploring the pathogenesis of Parkinson’s disease based on the “gut-brain” pathway[J]. Chin J Clin Pharmacol，2021，37（23）：3290-3294.

[2] 高源，陈艳梅，郑昆文，等. 白桦脂醇对帕金森小鼠运动功能及小胶质细胞活化的影响[J]. 中国医院药学杂志，2025，45（14）：1578-1583.
Gao Y，Chen YM，Zheng KW，*et al*. Betulin regulates motor function and microglial activation in mice with Parkinson’s disease[J]. Chin J Hosp Pharm，2025，45（14）：1578-1583.

[3] 姜诚诚，李洋洋，段可欣，等. Parkin通过介导PINK 1/Parkin线粒体自噬信号通路加速小鼠帕金森病发展及加剧神经炎症发生[J]. 南方医科大学学报，2024，44（12）：2359-2366.
Jiang CC，Li YY，Duan KX，*et al*. Parkin deletion affects PINK1/Parkin-mediated mitochondrial autophagy to exacerbate neuroinflammation and accelerate progression of Parkinson’s disease in mice[J]. J South Med Univ，2024，44（12）：2359-2366.

[4] Lizama BN，Chu CT. Neuronal autophagy and mitophagy in

Parkinson's disease[J]. Mol Aspects Med, 2021, 82: 100972.
[5] Abhangi KV, Patel JI. Neuroprotective effects of linagliptin in a rotenone-induced rat model of Parkinson's disease[J]. Indian J Pharmacol, 2022, 54(1): 46-50.
[6] Chen P, Wang YC, Chen LL, *et al*. Apelin-13 protects dopaminergic neurons against rotenone-induced neurotoxicity through the AMPK/mTOR/ULK-1 mediated autophagy activation[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 8376.
[7] 石拴霞, 阎一鑫, 王纪田, 等. AMPK/mTOR信号通路在线粒体自噬中的研究进展[J]. 海南医学, 2023, 34(5): 736-740.
Shi SX, Yan YX, Wang JT, *et al*. Research progress of AMPK/mTOR signaling pathway in mitochondrial autophagy [J]. Hainan Med J, 2023, 34(5): 736-740.
[8] Bobela W, Nazeeruddin S, Knott G, *et al*. Modulating the catalytic activity of AMPK has neuroprotective effects against α-synuclein toxicity[J]. Mol Neurodegener, 2017, 12(1): 80.
[9] Hang LT, Wang ZY, Foo ASC, *et al*. Conditional disruption of AMP kinase in dopaminergic neurons promotes Parkinson's disease-associated phenotypes *in vivo* [J]. Neurobiol Dis, 2021, 161: 105560.
[10] 罗早, 程钰凯, 沈佳琪, 等. mTOR核心通路在线粒体自噬过程中的调控作用[J]. 生命科学, 2026, 38(1): 99-108.
Luo Z, Cheng YK, Shen JQ, *et al*. The regulatory role of mTOR core pathways in mitochondrial autophagy [J]. Chin Bull Life Sci, 2026, 38(1): 99-108.
[11] 秦文, 毕尧, 刘得水, 等. 镇肝熄风汤通过Nrf2/HO-1通路对1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶诱导帕金森病小鼠的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2022, 43(24): 2301-2304.
Qin W, Bi Y, Liu DS, *et al*. Effect of Zhengan Xifeng decoction on Parkinson's disease mice induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6- tetrahydropyridine through Nrf2/HO-1 pathway [J]. J Qiqihar Med Univ, 2022, 43(24): 2301-2304.
[12] 祁羚, 李亚楠, 汪瑶, 等. 电针对帕金森病模型小鼠运动功能的影响及相关分子机制探讨[J]. 北京中医药大学学报, 2024, 47(5): 721-728.
Qi L, Li YN, Wang Y, *et al*. Effects of electroacupuncture on motor function and related molecular mechanisms in mice with Parkinson's disease [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2024, 47(5): 721-728.
[13] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-257.
[14] 祁羚, 汪瑶, 李亚楠, 等. 电针对鱼藤酮诱导的帕金森病大鼠神经炎性反应及Toll样受体4/核因子-κB信号通路的影响[J]. 针刺研究, 2021, 46(11): 929-934, 972.
Qi L, Wang Y, Li YN, *et al*. Electroacupuncture improves behavioral activities by suppressing neuroinflammation and TLR 4/NF-κB signaling in substantia nigra of midbrain in Parkinson's disease rats[J]. Acupunct Res, 2021, 46(11): 929-934, 972.
[15] 李含章, 李亚楠, 郭磊, 等. 电针对帕金森病小鼠肠道NEK7/NLRP3炎症信号通路的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2024, 47(10): 1466-1473.
Li HZ, Li YN, Guo L, *et al*. Effect of electroacupuncture on the NEK7/NLRP3 inflammatory signaling pathway in intestine of mice with Parkinson's disease [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2024, 47(10): 1466-1473.
[16] Zhao M, Wang BW, Zhang CY, *et al*. The DJ1-Nrf2-STING axis mediates the neuroprotective effects of Withaferin A in Parkinson's disease[J]. Cell Death Differ, 2021, 28(8): 2517-2535.
[17] 郭晓慧, 王亚丽, 哈迎昕. 镇肝熄风汤及其单味药治疗帕金森病的研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2025, 41(2): 216-221.
Guo XH, Wang YL, Ha YX. Research progress in the treatment of Parkinson's disease with Zhengan Xifeng Decoction and its single herbs[J]. J Changchun Univ Chin Med, 2025, 41(2): 216-221.
[18] 陈融清, 蔡燕珊, 董志强, 等. 镇肝熄风汤治疗帕金森病的研究概况[J]. 中医药临床杂志, 2023, 35(6): 1232-1237.
Chen RQ, Cai YS, Dong ZQ, *et al*. Research progress of Zhengan Xifeng in treatment of Parkinson's disease[J]. Clin J Tradit Chin Med, 2023, 35(6): 1232-1237.
[19] 汪瑶, 王彦春, 马骏. 电针对帕金森病大鼠中脑黑质Sirt3/NLRP3/GSDMD信号通路的影响[J]. 针刺研究, 2024, 49(4): 384-390.
Wang Y, Wang YC, Ma J. Effects of electroacupuncture on Sirt3/NLRP3/GSDMD signaling pathway in the substantia nigra of midbrain of rats with Parkinson's disease [J]. Acupunct Res, 2024, 49(4): 384-390.
[20] 张贵君, 汪瑶, 李军令, 等. 电针对帕金森病小鼠SIRT3/PINK1/Parkin通路介导的线粒体自噬的影响[J]. 针刺研究, 2024, 49(3): 221-230.
Zhang GJ, Wang Y, Li JL, *et al*. Effects of electroacupuncture on mitophagy mediated by SIRT3/PINK1/Parkin pathway in Parkinson's disease mice [J]. Acupunct Res, 2024, 49(3): 221-230.
[21] 张智敏, 白洁. 酪胺酸羟化酶和帕金森病相关研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(9): 2280-2282.
Zhang ZM, Bai J. Research progress on tyrosine hydroxylase and Parkinson's disease[J]. Chin J Gerontol, 2016, 36(9): 2280-2282.
[22] Pemberton S, Madiona K, Pieri L, *et al*. Hsc70 protein interaction with soluble and fibrillar alpha-synuclein [J]. J Biol Chem, 2011, 286(40): 34690-34699.
[23] Zhang LJ, Dai L, Li DY. Mitophagy in neurological disorders [J]. J Neuroinflammation, 2021, 18: 297.
[24] 阿迪莱·艾比布力, 姜乐, 白静. AMPK信号传导在帕金森病中的研究进展[J]. 医学研究与教育, 2025, 42(3): 1-7.
Adilai A, Jiang L, Bai J. Developments on AMPK signaling in Parkinson's disease[J]. Med Res Educ, 2025, 42(3): 1-7.
[25] 胡君卓, 高誉珊, 陈浩天, 等. 基于mTOR信号水平探讨电针对APP/PS1转基因小鼠自噬启动的影响[J]. 针灸临床杂志, 2025, 41(3): 68-74.
Hu JZ, Gao YS, Chen HT, *et al*. Effect of EA on autophagy initiation in APP/PS1 transgenic mice based on mTOR signal level[J]. J Clin Acupunct Moxibustion, 2025, 41(3): 68-74.

**收稿日期/Received**: 2025-12-30
**修回日期/Revised**: 2026-02-28