

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.03.003

"调神畅志"针刺法对帕金森伴便秘模型大鼠结肠组织 5-HT4R 及 CaM-MLCK 信号通路影响的研究*

白妍¹ 董兆玲¹ 卢金荣² 林玉杰¹ 肖艳¹ 李元² 秦正巍² 王顺^{2Δ}

(1 黑龙江省中医药科学院 黑龙江哈尔滨 150036; 2 黑龙江中医药大学 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要 目的:探讨"调神畅志"针刺法对帕金森伴便秘(Parkinson's disease with constipation)模型大鼠结肠组织中 5-羟色胺 4 受体(5-HT4R)及钙调蛋白(CaM)-肌球蛋白轻链激酶(MLCK)信号通路影响的研究,并探讨其可能作用机制。**方法:**采用随机数字表将 60 只大鼠分为空白组、假手术组、模型组、西药组、常规针刺组、调神畅志针刺组,每组 10 只。模型组、常规针刺组、调神畅志针刺组颈背部皮下注射鱼藤酮的方法制造 PDD 大鼠模型,并用阿扑吗啡(APO)诱导检测。常规针刺组选取天枢、足三里、上巨虚及舞蹈震颤控制区,接电针,连续波频率 15Hz,刺激强度 2 mA,留针 30 分钟,1 日 1 次,连续 4 周;调神畅志针刺组:选取王顺教授"调神畅志"三六九针法,百会透太阳、中脘、气海、足三里、太冲,采用连续波,头针频率 45Hz,腹针频率 30Hz,肢体针频率 15Hz (体现调神畅志三六九针法的头针重、腹针中、四肢针轻的量化刺激),刺激强度约 2 mA,留针 30 min,1 日 1 次,连续 4 周;西药组采用美多芭、莫沙必利每日灌胃,连续治疗 4 周;模型组、假手术组:每日 2 mL 生理盐水灌胃,连续 4 周;空白组不予处理。采用 Western blot 法检测各组近端结肠组织中 5-HT4R、CaM 及 MLCK 蛋白表达以及含量水平。**结果:**与空白组相比,模型组大鼠近端结肠组织中 5-HT4R、CaM 及 MLCK 蛋白表达水平显著降低($P<0.01$),与模型组比较,三个治疗组(西药组、常规针刺组、调神畅志针刺组)近端结肠组织 5-HT4R、CaM 及 MLCK 蛋白表达水平显著升高($P<0.01$)。与常规针刺组相比,调神畅志组 5-HT4R、CaM 及 MLCK 蛋白表达水平明显升高($P<0.05$)。**结论:**针刺可改善 PD 伴便秘大鼠模型便秘症状,且调神畅志针刺组优于常规针刺组,其作用机理可能通过调节大鼠结肠组织中 5-HT4R 蛋白表达以及激活 CaM-MLCK 信号通路来实现的。

关键词:针刺;调神畅志法;帕金森伴便秘;5-羟色胺 4 受体;钙调蛋白-肌球蛋白轻链激酶信号通路

中国分类号:R-33;R742.5;R242 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)03-410-05

Study on the Influence of Acupuncture Method of "Tiaoshenchangzhi" Acupuncture on the 5-HT4R and CaM-MLCK Signaling Pathway in the Colon Tissue of Rats with Parkinson's Constipation Model*

BAI Yan¹, DONG Zhao-ling¹, LU Jin-rong², LIN Yu-jie¹, XIAO Yan¹, LI Yuan², QING Zheng-we², WANG Shun^{2Δ}

(1 Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, 150036, China;

2 Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, 150040, China)

ABSTRACT Objective: To discover the effects of "Tiaoshenchangzhi" acupuncture on 5-HT4R and CaM-myosin in the colon tissue of rats with Parkinson's disease with constipation, and to examine their possible mechanisms of action. light link protein kinase (MLCK) signaling pathway in the colon tissue of rats with Parkinson's disease with restriction, and to explore their possible mechanisms of action.

Methods: 60 rats were classified into the blank group, the sham operation group, the modelling group, the western medicine group, the regular acupuncture group and the "Tiaoshenchangzhi" acupuncture group using a casual number table, with 10 rats in each group. The rat model of Parkinson's disease (PD) with constipation was made by subcutaneous injection of rotenone into the neck and back of model group, routine acupuncture group and Tiaoshenchangzhi acupuncture group, and detected by APO induction. In the conventional acupuncture group, Tianshu, Zusanli, Shangjuxu and dance tremor control areas were selected and electroacupuncture was performed with continuous wave frequency of 15Hz and stimulation intensity of 2 mA. The needles were kept for 30 minutes, once a day, for consecutive 4 weeks. Tiaoshenchangzhi acupuncture group: Professor Wang Shun's "TiaoshenChangzhi" thirty-nine needle method was selected, Baihui penetrating the Taiyang, Zhongwuan, Qihai, Zusanli and Taichong. Soil continuous wave was used, with the frequency of head needle 45Hz, abdominal needle 30Hz and limb needle 15Hz (To reflect the quantitative stimulation of the weight of the head needle, the weight of the abdomen needle and the light of the limbs needle of The 369 acupuncture method of Tiaoshenchangzhi) > the stimulation intensity was about 2mA, and the needle was left for 30 min, once a day, for consecutive 4 weeks; The western medicine group received metopar and mosapride daily gavage for 4 weeks. Model group and sham operation group: gavage of 2 mL normal saline daily for 4 con-

* 基金项目:黑龙江省中医药科研项目(ZHY19-070)

作者简介:白妍(1975-),女,博士,主任医师,研究方向:针灸治疗神经系统疾病的基础和临床研究, E-mail: 1447003128@qq.com

Δ 通讯作者:王顺(1965-),男,博士,主任医师,研究方向:针药结合治疗神经系统疾病的基础和临床研究, E-mail: hljwang@aliyun.com

(收稿日期:2023-03-27 接受日期:2023-05-01)

secutive weeks; Blank groups are not processed. Western blot was used to detect the expression and content of 5-HT4R, CaM and MLCK protein in the proximal colon tissues of each group. **Results:** Compared with the blank group, the expression of 5-HT4R, CaM and MLCK protein in the proximal colon tissue of model group were significantly decreased ($P<0.01$). Compared with the model group, the expression of 5-HT4R, CaM and MLCK protein in the proximal colon tissue of three treatment groups (Western medicine group, routine acupuncture group and Tiaoshenchangzhi acupuncture group) were significantly decreased Elevated ($P<0.01$). Compared with conventional acupuncture group, the expression of 5-HT4R, CaM and MLCK protein in Tiaoshenchangzhi group was significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Acupuncture can ameliorate the symptoms of constipation in the rat model of PD with constraints, and the "Tiaoshenchangzhi" acupuncture group was better than the conventional acupuncture group. The mechanism of action may be realized by adjusting the 5-HT4R protein expression and activating the CaM-MLCK signaling pathway in the rat colon tissue.

Key words: Acupuncture; Tiaoshenchangzhi method; Parkinson's disease with constipation; 5-HT4R; CaM-MLCK signaling pathway

Chinese Library: R-33; R742.5; R242 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2024)03-410-05

前言

帕金森病(Parkinson's disease, PD)又称为震颤性麻痹,是一种多巴胺能神经元退行性运动障碍疾病^[1]。根据流行病学调查,70%~80%的PD患者均有胃肠道功能障碍^[2],便秘已成为PD的典型非运动症状。有相关研究表明,5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、去甲肾上腺素系统及其相关脑结构的功能改变与PD非运动症状的产生密切相关^[3-4]。目前5-HT4R激活了较多的下游信号通路,其中调控平滑肌收缩最主要的通路为CaM-MLCK通路^[5]。迄今为止,有关PD伴便秘的发病机制研究尚未涉及5-HT4R及其CaM-MLCK信号途径。因此,本课题组通过观察针刺对鱼藤酮诱导的PD伴便秘模型大鼠结肠组织中5-HT4R改变及CaM-MLCK信号通路影响,探讨"调神畅志"法针刺治疗对上述指标的影响及相关作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

辽宁省动物试验中心(SCXK(辽)2021-0001)提供的60只(体重 200 ± 20 g)雄性SD大鼠。环境温度 $22\sim 25^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $35\pm 2\%$,噪音 40 ± 10 分贝,进食和饮水正常。

1.2 主要试剂及仪器

美多芭(0.25g/片,上海罗氏制药有限公司);枸橼酸莫沙必利片(5mg/片,江苏豪森药业股份有限公司);鱼藤酮粉末、葵花油(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);阿朴吗啡(美国sigma公司,SLBB0077V);RIPA组织细胞快速裂解液(北京索莱宝, R0020);BCA蛋白定量试剂盒(Thermo, PICPI23223);蛋白预染Marker(Fermentas, SM1811);安迪牌针灸针(0.25mm \times 25mm, 贵州安迪药械有限公司);电针治疗仪(上海涵飞医疗, G-6805);200g精密电子天平(碧云天, E0288)电泳仪(BIO-RAD公司, mini protean 3 cell);电转仪(HOEFER, TE77XP);酶标仪(芬兰雷勃酶标仪, MK3)。

1.3 动物模型的制备

采取颈背部皮下注射鱼藤酮制剂^[6]的方法造PD伴便秘模型。将2mg鱼藤酮粉末溶解于1mL葵花油试剂,大鼠称重后,模型组、西药组、调神畅志组、常规针刺组以2mg/kg颈背部皮下注射鱼藤酮制剂,每日1次,持续4周;假手术组注射葵花油试剂,1日1次,共4周;空白组不予处理。鱼藤酮的选择,它是

天然化合物,亲脂性较强,能透过血脑屏障,引起多巴胺神经元病变,从而使生物体出现PD样症状^[7],具有复制人类PD关键病理特征的能力。低剂量鱼藤酮小鼠模型可以重现PD的行为以及中枢和外周神经退行性特征,实验中发现迷走神经背侧运动核(DMV)和肠肌间丛中胆碱能神经元的显著减少,是研究PD发病机制的有用模型^[8]。

1.4 分组及实验方法

将造模成功的60只大鼠分为模型组、西药组、常规针刺组、调神畅志针刺组、空白组、假手术组各10只。常规针刺组:依据《针灸学》与《实验动物针灸穴位图谱》选取天枢、足三里、上巨虚及舞蹈震颤控制区,0.25mm \times 25mm毫针,进针深度5mm,接电针,连续波频率15Hz,刺激强度2mA(以针柄轻颤,大鼠不挣扎嘶叫为度),留针30分钟,1日1次,连续4周,针刺均有同一人操作。调神畅志针刺组:选取王顺教授提出的"调神畅志"理论下的三六九针法,百会透太阳、中脘、气海、足三里、太冲。以百会穴为中心,向一侧太阳平刺,两侧太阳交替进行,其余穴位每日一次。统一使用0.25mm \times 25mm毫针(安迪牌),足三里、太冲针刺深度为3mm,其余穴位均为5mm;接上电针,采用连续波,头针频率45Hz,腹针频率30Hz,肢体针频率15Hz(体现调神畅志三六九针法的头针重、腹针中、四肢针轻的量化刺激),刺激强度约2mA,以大鼠不挣扎嘶叫为度,留针30min,1日1次,连续4周,针刺均有同一人操作。西药组:美多芭(50mg/kg)、枸橼酸莫沙必利(2mg/kg)每日灌胃,连续治疗4周。模型组、假手术组:每日灌胃生理盐水2mL,连续4周,空白组不予处理。根据2006年中华人民共和国科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》,对实验动物进行了妥善处理。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 APO诱导行为学检测 将大鼠放于不锈钢攀爬笼^[9]中进行5分钟的适应。按照(0.5mg/kg,浓度为0.1mg/mL)阿朴吗啡给药量进行皮下注射,然后将大鼠放回攀爬笼内两分钟,观察其攀爬行为并记录分值,共测试三次,每次间隔十分钟,三次测试数值取均值。

1.5.2 行为学评分 大鼠单独放置笼中,观察大鼠行为5min,按照行为学评分标准^[10]评分,选取2-6分大鼠作为本次实验PD大鼠模型。

1.5.3 PD伴便秘模型成功的检测 4周后,选取模型大鼠8

只,空白组 2 只,假手术组 2 只,进行便秘模型检测。通过观察各组大鼠粪便含水率变化来判定造模成功与否,若造模后大鼠粪便含水率相比空白组明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),则表示造模成功。

1.5.4 粪便含水率^[11] 造模成功的 6 组大鼠且治疗 4 周后,收集其 1 h 内的粪便,称重后为粪便湿重,然后于恒温干燥箱 65℃干燥 12 h 后,称重为粪便干重。按照公式(粪便含水率 = (湿重 - 干重) / 湿重 × 100%)得到粪便含水率。

1.5.5 Western Blot 法检测各组近端结肠组织中 5-HT4R、CaM 及 MLCK 蛋白表达水平 治疗阶段结束后,麻醉处死所有大鼠,取出近端结肠,加裂解液测定蛋白浓度。蛋白样本加上样缓冲液,离心取上清上样,转膜,封闭,加入一抗 5-HT4R、CaM、MLCK(1:1000),加入二抗(1:5000)。ECL 发光液 A 和 B 加入膜的正面,避光 5 分钟,用滤纸吸干后,用透明纸覆盖,将其置于

成像系统内,进行扫描、发光、显影,然后保存图片。用 imagej 软件分析条带灰度值。

1.6 统计学方法

用 SPSS26.0 进行统计处理,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)分析,组间两两多重比较采用最小显著性差异法(LSD)分析,以 $P<0.05$ 为显著性标准。

2 结果

2.1 APO 诱导攀爬实验结果

结果:假手术组与空白组大鼠攀爬不锈钢笼,均无明显异常,而模型组则出现肢体软弱、步态不稳,行动迟缓等症状,显示其成功造模。见表 1。

表 1 APO 诱导攀爬试验分数($\bar{x} \pm s$)
Table 1 APO induced climbing test scores($\bar{x} \pm s$)

Groups	Number of cases(only)	Score
Blank group	10	1.84± 0.16
Sham operation group	10	1.78± 0.20
Model group	10	0.20± 0.02*

Remarks: Comparing with blank group sham operation group, * $P<0.01$.

2.2 行为学评分

颈背部皮下注射鱼藤酮 4 周左右,大鼠出现弓背,毛色发黄变脏、竖毛明显,主动活动减少,后肢无力,行走时向一侧偏斜、旋转,精神状态差等帕金森行为,提示造模成功。

2.3 大鼠粪便含水率结果

治疗后粪便含水率,与空白组比较,模型组粪便含水率明显下降($P<0.01$);与西药组相比,常规针刺组与调神畅志组粪便含水率较低($P<0.05$);相较于常规针刺组,调神畅志组粪便含水率升高较明显($P<0.05$),见表 2。

表 2 粪便含水率($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Fecal water content($\bar{x} \pm s$)

Groups	Amount(n)	Before treatment(%)	After treatment(%)
Blank group	10	55.92± 1.36	55.57± 1.13
Sham operation group	10	55.37± 1.36	54.86± 1.37
Model group	10	31.08± 1.31	30.49± 1.19 [#]
Western medicine group	10	30.37± 1.29	49.96± 1.09*
Routine acupuncture group	10	30.72± 1.09	40.44± 1.28 [△]
Tiaoshen Changzhi acupuncture group	10	30.27± 1.46	45.75± 1.04 ^{△▽}

Remarks: Comparing with blank group: [#] $P<0.01$; Comparing with model group: * $P<0.01$; Comparing with western medicine group: [△] $P<0.05$; Comparing with routine acupuncture group: [▽] $P<0.05$.

2.4 各组大鼠近段结肠组织 5-HT4R、CaM、MLCK 的蛋白表达水平比较

Western blot 结果显示:与空白组相比,模型组 5-HT4R、CaM、MLCK 蛋白表达水平显著下降($P<0.01$);与模型组相比,常规针刺组 5-HT4R、CaM、MLCK 蛋白表达水平上升($P<0.05, P<0.01$),调神畅志组、西药组 5-HT4R、CaM、MLCK 蛋白表达水平显著上升($P<0.01$);西药组 5-HT4R、CaM、MLCK 蛋白表达高于调神畅志组($P<0.05, P<0.01$),调神畅志组 5-HT4R、CaM、MLCK 蛋白表达高于常规针刺组($P<0.05, P<$

0.01),如表 5,见图 1。

3 讨论

廉龙江^[12]研究发现帕金森合并便秘患者,其抑郁症的发病率和程度均显著增加,同时,其外周血中 5-HT 含量显著下降。PD 患者胃肠动力障碍严重影响其生活质量,但目前尚且没有良好的治疗方法。临床采用左旋多巴治疗,但其有较大的副作用。而针灸作为祖国医学的一部分,具有高效、简廉、且无任何副作用,大量研究表明,针灸对 PD 伴便秘有良好的治疗作用。

表 3 各组大鼠结肠 5-HT4R、CaM、MLCK 蛋白表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Colonic 5-HT4R, CaM and MLCK protein expression levels in rats of all groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	Amount(n)	5-HT4R	CaM	MLCK
Blank group	10	0.987± 0.031	0.980± 0.020	0.983± 0.015
Sham operation group	10	1.003± 0.032	0.977± 0.032	1.000± 0.036
Model group	10	0.463± 0.012*	0.453± 0.015*	0.477± 0.012*
Western medicine group	10	0.767± 0.015**	0.753± 0.025**	0.777± 0.012**
Routine acupuncture group	10	0.590± 0.020 [△]	0.577± 0.023 [△]	0.593± 0.032 [△]
Tiaoshenchangzhi acupuncture group	10	0.667± 0.015 ^{*▽●}	0.657± 0.006 ^{*▽●}	0.670± 0.010 ^{*▽●}

Remarks: Comparing with blank group: * $P < 0.01$; Comparing with model group: ** $P < 0.01$, # $P < 0.01$, [△] $P < 0.01$; Comparing with western medicine group: [△] $P < 0.01$, [△] $P < 0.05$; Comparing with routine acupuncture group: ● $P < 0.01$.

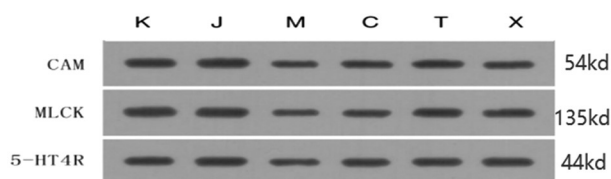


图 1 Western Blot 检测 CAM、MLCK、5-HT4R 蛋白表达

Fig.1 Western Blot analysis of CAM, MLCK, 5-HT4R protein expression

Remarks: K: Blank group, J: sham operation group, M: model group, X: Western medicine group, C: Routine acupuncture group, T: Tiaoshenchangzhi acupuncture group.

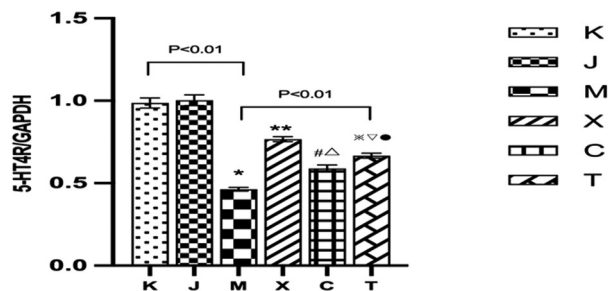


图 2 各组大鼠结肠组织 5-HT4R 蛋白表达水平

Fig.2 The 5-HT4R protein exposure in rat colonic tissues of all groups

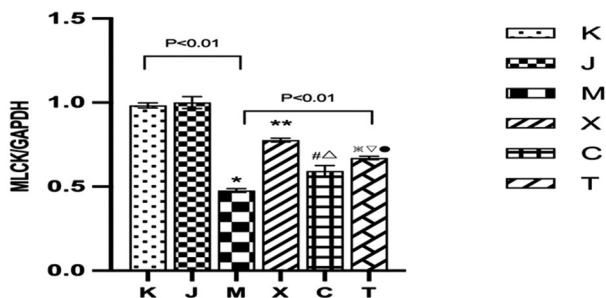


图 3 各组大鼠结肠组织 MLCK 蛋白表达水平

Fig.3 The MLCK protein exposure in rat colonic tissues of all groups

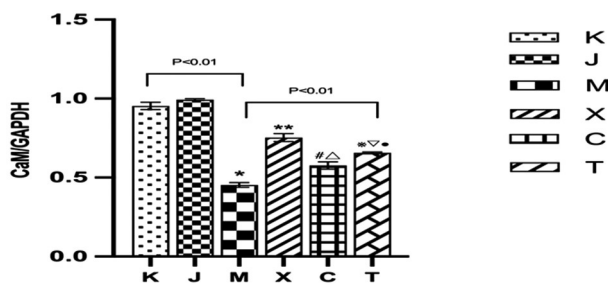


图 4 各组大鼠结肠组织 CAM 蛋白表达水平

Fig.4 The CAM protein exposure in rat colonic tissues of all groups

本课题组选取王顺教授“调神畅志”针刺方法,选取“百会”“太阳”“中脘”“气海”“足三里”“太冲”。旨在通过针刺和手法的运用达到调理情志,从而进一步改善五脏功能,最终达到治疗疾病目的。现已发现,肠神经系统能够独立于中枢神经系统之外而自我调控,所以又被称为“肠脑”。调神畅志针法对“脑神”功能具有重要的调节作用,而实际上的“脑神”囊括范围广泛包括元神之府和肠神经系统的“肠脑”,因此上可以达到脑肠同治的效果。“调神畅志”针法在头部取穴,以达安神补髓,益智强脑之效;腹部选穴,依据脑肠理论,意在调畅肠腑通降气机,从而改善胃肠道功能;调节脏神选穴以期协调五脏六腑功能恢复。此外,加以腧穴刺激量刺激,头部的刺激量最大、腹部次之、四肢最小。

5-HT 神经元系统可能参与 PD 的发生发展,有研究报道 5-HT 能神经元丢失早于多巴胺能的神经退行性病变^[13]。研究表明,在 PD 患者中,5-HT4R 激动剂实际上增强了胃肠道运动,从而可能通过神经机制改善便秘^[14]。5-HT 必须结合相应的受体发挥作用,其中 5-HT₄ 受体具有调节胃肠道动力的功能。

5-HT4R 被激活之后,使细胞外 Ca²⁺ 快速内流,胞内 Ca²⁺ 浓度升高,进而激活下游信号通路,使结肠平滑肌收缩,从而对结肠平滑肌的运动进行调控^[15]。在静息状态下,平滑肌细胞内的 Ca²⁺ 浓度较低,少部分 Ca²⁺ 只与钙调蛋白结合,并不与 MLCK 结合。当细胞受到外部刺激兴奋后, Ca²⁺ 浓度升高,诱发平滑肌细胞横桥产生收缩,这种状态被称为粗肌丝相关调节机制^[16]。临床研究表明 5-HT4R 激动剂可以增加 PD 病人排便频率^[17-19],而多项研究表明,5-HT4R 在肠神经元的存活以及神经发生中起着重要作用^[20-22]。CaM 是一种具有多功能的调节蛋白,它是细胞内 Ca²⁺ 信号通路中最重要的信号传导分子,可以对 Ca²⁺ 引起的一系列生化反应进行调控,从而介导并调控细胞的增殖、运转等活动^[23]。5-HT4R 活化后作用于平滑肌细胞膜,激活 Ca²⁺ 离子通道,使细胞内游离 Ca²⁺ 水平迅速升高并与 CaM 结合形成 Ca²⁺-CaM 复合物,继续激活肌球蛋白轻链激酶^[24]。从肌源性和脑肠轴角度探讨“调神畅志”针刺方法对 PD 伴便秘大鼠结肠动力的影响具有重要的意义。

本实验采用 Western Blot 法检测 5-HT4R、CaM、MLCK 蛋

白表达水平,目的是验证不同针刺方法能否减弱 PD 伴便秘症状。通过对 PD 伴大鼠粪便含水量、小肠推进率、胃内容物残留率检测,发现针刺方法对粪便含水量、胃肠道传输功能具有显著改善作用,与西药组美多芭+莫沙必利治疗疗效相当。相较于模型组,常规针刺组与调神畅志针刺组 5-HT4R、CaM、MLCK 蛋白表达显著上升,且调神畅志组蛋白表达水平高于常规针刺组。本实验表明,"调神畅志"针刺方法与美多芭+莫沙必利疗效相当,以此说明了 5-HT4R 是"调神畅志"针刺作用的靶点之一。模型组大鼠结肠组织 5-HT4R、CaM、MLCK 的蛋白表达水平较正常组显著下降($P<0.01$),但在两组针刺后显著恢复($P<0.05$),5-HT4R 与 CaM-MLCK 通路存在显著的正相关,提示两种针刺疗法可能通过调控大鼠结肠组织中 5-HT4R 表达,激活下游 CaM-MLCK 信号通路,从而改善 PD 便秘症状,且调神畅志针刺组优于常规针刺组。

参考文献(References)

- [1] LEES A J, HARDY J, REVESZ T. Parkinson's disease [J]. *Lancet* (London, England), 2009, 373(9680): 2055-2066.
- [2] 韦波."调神畅情" 针法对 PD 胃肠功能障碍模型大鼠不同部位 α -syn 含量影响的研究[D].哈尔滨:黑龙江省中医药科学院,2020.
- [3] Ferrer I, Lopez-Gonzalez I, Carmona M, et al. Neurochemistry and the non-motor aspects of PD[J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 46(3): 508-526.
- [4] Politis M, Loane C. Serotonergic dysfunction in Parkinson's disease and its relevance to disability[J]. *Sci World J*, 2011, 11(6): 1726-1734.
- [5] 李菲菲, 缪晚虹, 陶津华.基于平滑肌收缩机制探索芍药甘草汤治疗眼调节痉挛的可行性综述 [J]. *山东中医杂志*, 2019, 38(12): 1198-1202.
- [6] 王述菊, 余沛豪, 马骏, 等.电针对鱼藤酮诱导的帕金森病模型大鼠黑质内自噬相关自相关蛋白表达的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(09): 1812-1815.
- [7] Bisbal M, Sanchez M. Neurotoxicity of the pesticide rotenone on neuronal polarization: a mechanistic approach [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(5): 762-766.
- [8] Miyazaki I, Isooka N, Imafuku F. Chronic Systemic Exposure to Low-Dose Rotenone Induced Central and Peripheral Neuropathology and Motor Deficits in Mice: Reproducible Animal Model of Parkinson's Disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3254.
- [9] 张俊凯."调神畅情" 针法对 PD 胃肠功能障碍模型大鼠不同部位 ICC 及 SP 含量影响的研究[D].黑龙江省中医药科学院, 2020.
- [10] 陈忻, 张楠, 赵晖, 等.鱼藤酮致帕金森病大鼠行为学与黑质病理损伤的关系[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2008, 34(4): 232-234.
- [11] 陈联卫."调神畅情" 针法对 PD 胃肠功能障碍模型大鼠不同部位 TLR4 及 CXCR4 表达的影响[D].黑龙江省中医药科学院, 2020.
- [12] 廉龙江. 基于"脑肠轴" 理论探讨帕金森病便秘与抑郁的相关性研究[D]. 合肥:安徽中医药大学, 2017.
- [13] Jellinger K A. Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway [J]. *Mol ChemNeuropathol*, 1991, 14(3): 153-97.
- [14] Liu Z, Sakakibara R, Odaka T, et al. Mosapride citrate, a novel 5-HT4 agonist and partial 5-HT3 antagonist, ameliorates constipation in parkinsonian patients[J]. *Mov Disord*, 2005, 20(6): 680-686.
- [15] 李菲菲, 缪晚虹, 陶津华.基于平滑肌收缩机制探索芍药甘草汤治疗眼调节痉挛的可行性综述 [J]. *山东中医杂志*, 2019, 38(12): 1198-1202.
- [16] 吴斌, 齐清会.平滑肌细胞内钙水平对胃肠动力的调节[J]. *国外医学(消化系疾病分册)*, 2005, 25(2): 97-100.
- [17] Liu Z, Sakakibara R, Odaka T, et al. Mosapride citrate, a novel 5-HT4 agonist and partial 5-HT3 antagonist, ameliorates constipation in parkinsonian patients[J]. *Mov Disord*, 2005, 20(6): 680-686.
- [18] Freitas M E, Alqaraawi A, Lang A E, et al. Linaclotide and Prucalopride for Management of Constipation in Patients with Parkinsonism[J]. *Mov Disord Clin Pract*, 2018, 5(2): 218-20.
- [19] Asai H, Ueda F, Hirano M, et al. Increased gastric motility during 5-HT4 agonist therapy reduces response fluctuations in Parkinson's disease[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2005, 11(8): 499-502.
- [20] Belkind-Gerson J, Hotta R, Nagy N, et al. Colitis induces enteric neurogenesis through a 5-HT4-dependent mechanism [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2015, 21(4): 870-878.
- [21] Bianco F, Bonora E, Natarajan D, et al. Prucalopride exerts neuroprotection in human enteric neurons [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 310(10): G768-775.
- [22] Liu M T, Kuan Y H, Wang J, et al. 5-HT4 receptor-mediated neuroprotection and neurogenesis in the enteric nervous system of adult mice[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(31): 9683-9699.
- [23] O'DAY DH, TAYLOR RJ, MYRE MA. Calmodulin and calmodulin binding proteins in dictyostelium: A primer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1210.
- [24] Álvarez-Santos MD, Álvarez-González M, Estrada-Soto S, et al. Regulation of Myosin Light-Chain Phosphatase Activity to Generate Airway Smooth Muscle Hypercontractility [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 701.