

## 2Hz 電針不同俞穴降血糖之比較研究

張世良<sup>1,3,4</sup> 林昭庚<sup>1,4</sup> 謝慶良<sup>2,4</sup> 鄭瑞棠<sup>3,4</sup> 張次郎<sup>4</sup>

<sup>1</sup>私立中國醫藥學院 中國醫學研究所

<sup>2</sup>中國醫藥學院附設醫院 中醫部

台中

<sup>3</sup>國立成功大學 中醫藥研究中心

台南

<sup>4</sup>財團法人中醫藥發展基金會

彰化

(2002 年 2 月 1 日受理, 2002 年 2 月 27 日收校訂稿, 2002 年 2 月 27 日接受刊載)

根據傳統中醫理論, 針刺不同俞穴能產生不同治療效果, 透過經絡學說取穴的方法有局部取穴、遠部取穴及循經取穴等。本研究主要目的: 利用 2Hz 電針分別刺激中脘關元及兩側足三里穴, 以血糖變化為指標證實此一理論, 同時比較兩者降血糖作用機轉的差異。方法是將雄性 Wistar 大白鼠, 隨機分為實驗組及對照組。實驗組是去除兩側腎上腺後, 以 2Hz 電針中脘關元穴或足三里穴三十分鐘後觀察血糖之變化, 並以 ELISA 測量血清腦內啡 (β-endorphin) 及胰島素 (Insulin) 的含量, 而對照組則不將兩側腎上腺切除。另外, 於電針正常大白鼠前三十分鐘施打納絡酮 (Naloxone 1mg/kg, i.v.), 然後比較其對 2 Hz 電針中脘關元穴及足三里穴血糖變化之影響。結果顯示: 在對照組方面, 2Hz 電針中脘關元穴或足三里穴兩者都有降血糖作用, 同時增加血清腦內啡和胰島素的濃度。在實驗組方面: 2 Hz 電針腹部中脘關元穴降血糖作用消失, 而 2Hz 電針兩側足三里穴有部分降血糖作用, 但對於血清腦內啡及胰島素濃度的變化兩者電針前後皆無顯著差異。另一方面, 納絡酮可完全阻斷正常大白鼠電針中脘關元穴降血糖作用, 而無法完全阻斷足三里穴降血糖作用。

結論是 2Hz 電針大白鼠中脘關元穴有大量的腦內啡來自腎上腺刺激血清胰島素的分泌而導致血糖下降。2Hz 電針兩側足三里穴, 其降血糖作用僅部份來自腎上腺, 導致可能有非經由內生性的腦內啡降血糖機轉參與其中, 但須進一步的研究。本研究證實了傳統中醫理論針刺不同俞穴確能產生不同的效果, 也說明了針灸治療學的遠部取穴與循經取穴, 確有實質意義。

關鍵詞: 電針, 中脘, 足三里, 腦內啡, 胰島素, 血糖。

## 前 言

先前我們電針腹部中脘關元穴探討對於不同糖尿病動物模型影響，發現對於正常的 Wistar 及幼年時以 STZ 誘發的非胰島素依賴型 (NIDDM) 動物模型較胰島素依賴型 (IDDM) 的 STZ 及 BB/W 大鼠有顯著的降血糖作用，其主要機轉是激發血中腦內啡經由胰島素分泌而調降血糖。在穴位的專一性探討方面，比較了正常大白鼠腹部的非穴區，發現中脘關元穴較非穴區有顯著的降糖作用，且電針穴位能促使血清中的胰島素及腦內啡含量顯著的增加，而非穴區則無此一現象，確有穴位的專一性<sup>1</sup>。因此，引發了我們進一步探討電針降血糖的興趣。另外傳統認為經絡是「內連臟腑，外絡肢節」，因此我們根據循經取穴及遠部取穴的方法，進一步探討解剖部位距胰臟較遠的足三里穴對降血糖之影響，並與前者比較借以檢討降血糖機轉，來說明不同穴位會產生不同的作用效果，更證實了針灸治療採用遠部取穴與循經取穴方法的實質意義。

許多的研究已顯示電針止痛是經由激發內生性嗎啡而來<sup>2-5</sup>，且不同頻率電針能激發不同種類的內生性嗎啡。更有研究認為 2Hz 與  $\mu$ -， $\delta$ -嗎啡受體有關<sup>3</sup>，而 2/15Hz 的疏密波及 30 Hz 則能啟動  $\mu$ -， $\delta$ - 和  $\kappa$ -嗎啡受體<sup>3,6</sup>。因此，我們選用 2Hz 電針來比較不同穴位降血糖之影響並進一步探討其機轉。一些研究發現，內生性嗎啡也參與了運動後影響胰島素分泌而調控血糖<sup>7,8</sup>，運動時分泌內生性嗎啡能促使骨骼肌吸收葡萄糖並與胰島素分泌有關<sup>9</sup>。靜脈給予  $\mu$ -受體的作用劑 (Loperamide) 能促使胰島素不存在的 STZ 糖尿病大白鼠調降血糖<sup>10</sup>。靜脈給予 STZ 糖尿病大白鼠人工合成的腦內啡 (12.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )，有顯著的降血糖作用<sup>11</sup>。所以電針可激發內生性嗎啡經由受體的結合而調降血糖，或經由促進胰島素之分泌而影響血糖。

本研究主要目的是探討 2Hz 電針不同穴位對血糖的影響，使用距離胰島較近的中脘關元穴及較遠的足三里穴利用去腎上腺大白鼠，經由 ELISA 的方法檢測腦內啡及胰島素，並靜脈注射足量的納絡酮阻斷嗎啡受體，來進一步說明降血糖的機轉。

## 材料與方法

### 一、動物模型 (Animal Model)

實驗動物由台灣成功大學提供寄養於動物中心，環境條件為室溫 (25  $\pm$ 1°C)，日夜控制各 12 小時，白天於 6:00 AM 開始。雄性的 Wistar 大白鼠 (年齡 8-10 週，體重 250-350 公克)，隨機分為對照組及實驗組。實驗組依照文獻記載的方式將兩側腎上腺摘除<sup>12,13</sup>，而對照組則以相同的方式處理唯不將腎上腺摘除，實驗動物皆遵照國際動物倫理規範處置。

### 二、取穴與電針 (Acupoints and Electroacupuncture)

中脘關元穴及足三里穴採用之前發表的取穴方法<sup>1,14-16</sup>，將大白鼠劍突上緣至恥骨上緣的距離分為十四等分，中脘穴位於腹部中線恥骨上緣往上九等分的位置，關元穴位於腹部中線恥骨上緣往上二等分的位置<sup>1</sup>。足三里則位於小腿脛前肌 (anterior tibia muscle) 近膝側的位置<sup>15,16</sup>。針具採用 0.5 寸 30 號針 (千輝公司)，垂直刺入肌肉層約 2-5 mm，並接上電針機 (Han's Healthronic Likon, Taipei, Taiwan)，正極接在中脘穴，負極

接於關元穴；而在小腿兩側足三里穴，正極接在右側，負極接於左側，以 2Hz/10mA 電針 30 分鐘。

### 三、實驗室的測量(Laboratory determinations)

#### (一)血糖 (Plasma Glucose) 的測定：

各組動物經過 12 小時絕食後，在 pentobarbital (30 mg/kg, i.p.) 麻醉後進行電針，於電針前後於股靜脈抽取 0.5 ml 血液置含於有抗凝劑 (heparin) 的小試管中離心 (13000X, 3 min)，取上層血清以備檢測。血糖的檢測採用葡萄糖氧化酵素法 (glucose-oxidase method)，取 15  $\mu$ l 血清加入 1.5 ml 的檢測試劑 (Biosystems S.A., Barcelona, Spain)，混合均勻後置於 37°C 水浴 (Yamato-BT-25, Tokyo, Japan) 10 分鐘後，置於分光光度計 (Quik-Lab, Ames, Miles Inc., Elkhart, Ind., USA) 中讀出血糖值。

#### (二)血清腦內啡 (Plasma $\beta$ -endorphin) 的測定

採用 ELISA 的方法檢測 (Peninsula Laboratories, Inc)，於每一測量槽中加入 50  $\mu$ l 的血清及標準品之後加入 25  $\mu$ l 初級抗體 (primary antibody) 及 25  $\mu$ l biotinylated peptide 於室溫中培養 2 小時，然後每次以緩衝液 300  $\mu$ l 沖洗五次，再加入 streptavidin-HRP 室溫中培養 1 小時，再每次以緩衝液 300  $\mu$ l 沖洗五次，再加入 TMB solution 室溫中培養 0.5-1 小時，加入 2N HCl 終止反應，於波長 450 nm 的分光光度計中讀出吸光度，並由吸光度與標準品的濃度曲線中計算濃度。

#### (三)血清胰島素 (Plasma Insulin) 的測定

採用 ELISA 的方法檢測 (Mercodia AB, Seminariegatan 29, S-752 28 Uppsala, Sweden)，於每一測量槽中加入 25  $\mu$ l 的血清及標準品，50  $\mu$ l 結合溶液 (Conjugate solution) 於室溫中振盪培養 2 小時，之後每次以緩衝液 350  $\mu$ l 沖洗 5 次，再加入 200  $\mu$ l Peroxidase substrate (TMB) 室溫中培養 15 分鐘，加入 50  $\mu$ l 終止溶液 stop solution (1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 終止反應振盪培養 5 秒，於波長 450 nm 的分光光度計中讀出吸光度，並由吸光度與標準品的濃度曲線中計算濃度。

### 四、納絡酮之影響(Influence of Naloxone)

根據之前的觀察，納絡酮 1 mg/kg i.v. 處理 30 分鐘後，並不影響絕食大白鼠血糖且能阻斷 15 Hz 電針中脘的降血糖作用<sup>1</sup>。本研究利用此一經驗，將正常雄性 wistar 大白鼠隨機分為中脘組與足三里組，皆以納絡酮 1 mg/kg i.v. 處理 30 分鐘後，再由股靜脈抽取 2Hz 電針前後的血液，進行血糖的檢測，比較中脘組與足三里組降血糖作用是否被納絡酮所阻斷。

### 五、計算與統計分析(Calculation and Statistical Analysis)

實驗中每一項樣本皆測量兩次取其平均值作為樣本的測量值。降糖百分比則採用下列公式計算： $(Gi - Gt) \times 100 / Gi$ ；Gi 代表為電針前的血糖值，Gt 代表電針後的血糖值。實驗結果每組均值以 Means  $\pm$  SEM (n) 表示，同一組電針前後的比較採用 self-paired t-test，不同組間的比較採用變方分析 (ANOVA, Dunnett range

post-hoc comparisons ) 當  $p < 0.05$  為有統計上的顯著差異。

## 結 果

### 一、2 Hz 電針兩側足三里及中脘關元穴對血糖之影響

2Hz 電針大鼠對照組腹部中脘關元穴及小腿兩側足三里穴皆有顯著的降血糖作用，而實驗組在腹部中脘關元穴，其降血糖作用完全消失，未達統計顯著差異，足三里穴卻僅部份消失。經由四組降糖百分比變方分析 (ANOVA) 得知：無論是對照組或實驗組，其 2Hz 電針正常大白鼠小腿兩側足三里穴降糖作用皆優於腹部中脘關元穴 (表 1)。

### 二、納絡酮對 2 Hz 電針降血糖效應之影響

2Hz 電針腹部中脘關元穴的降糖作用，可被足量的納絡酮 (1 mg/kg, i.v.) 完全阻斷，此一結果與之前發表的論文相同<sup>1</sup>，而足三里穴卻僅被部份阻斷 (表 2)。

### 三、2 Hz 電針中脘關元穴及兩側足三里穴對血清腦內啡及胰島素之影響

2Hz 電針中脘關元穴及足三里穴皆可增加對照組血清中腦內啡及胰島素的含量，而腎上腺摘除後則這些作用皆消失，且電針前實驗組與對照組之腦內啡與胰島素皆無顯著差異 (表 3, 4)。

表 1 2 Hz 電針兩側足三里及中脘關元穴對血糖之影響

2Hz 電針	中脘關元穴			兩側足三里穴		
	前	後	%	前	後	%
對照組	129±12	110±9**	-15±3, B	128±5	92±3**	-28±4, A
實驗組	112±8	111±9	-1±4, C	118±14	98±14**	-17±6, B

血糖值表示為 means±SEM (mg/dl), n=7

\*\*  $p < 0.01$ ；電針前後血糖值的比較，採 self-paired t-test

A>B>C；降糖百分比採 ANOVA, Dunnett range post-hoc comparisons  $p < 0.05$

表 2 納絡酮(1mg/kg,i.v.)對 2 Hz 電針中脘關元穴及兩側足三里穴降血糖效應之影響

2 Hz 電針	血糖值(mg/dl)		降糖百分比 (%)
	前	後	
中脘組	102±13	109±12	0±7(7)
足三里組	106±21	91±22*	-15±9(6)##

\*  $p < 0.05$ ；電針前後值的比較，採 self-paired t-test, (n)代表各組樣本數

##  $p < 0.01$ ；兩穴區電針降糖百分比之比較，採 unpaired t-test

表 3 2 Hz 電針中脘關元穴對血清腦內啡及胰島素之影響

	腦內啡(pmol/L)		胰島素(pmol/L)	
	前	後	前	後

對照組	3.4±0.0	4.3±0.1**	336.4±12	496.5±12**
實驗組	3.9±0.2	4.1±0.2	366.2±15	359.2±12

\*\* p < 0.01 電針前後值的比較，採 self-paired t-test, n = 6

表 4 2Hz 電針兩側足三里穴對血清腦內啡及胰島素之影響

	腦內啡(pmol/L)		胰島素(pmol/L)	
	前	後	前	後
對照組	3.6±0.1	4.3±0.1*	381.9±13	482.9±22**
實驗組	4.0±0.2	3.7±0.1	398.5±24	381.2±28

\*\* p < 0.01 ; \* p < 0.05 電針前後值的比較，採 self-paired t-test, n = 6

## 討論與結論

我們的結果顯示實驗組之空腹血糖皆較對照組為低，這些現象可能與腎上腺的分泌物如：腎上腺素 (adrenaline)、糖皮質固醇 (glucocorticoide) 有關<sup>12</sup>，另外，當兩側腎上腺被去除後，可以增加腦下垂體前葉內生性嗎啡之含量 (endogenous opioid peptide)<sup>14</sup>，而在表 3-4 中亦可觀察到，實驗組的血清中腦內啡不會因為腎上腺的切除而較對照組低，此一現象可能是與腎上腺的切除後回饋刺激了腦下垂體，以維持機體的衡定有關，這些因素都可能影響電針的降糖作用。從我們的結果去除腎上腺後 2Hz 電針足三里降糖百分比與納絡酮阻斷後 2Hz 電針足三里降糖百分比相近，也可以推測電針激發的腦內啡來自於腎上腺。

根據傳統中醫理論中脘為胃的募穴，為胃氣所會聚之處，它的解剖位置接近胰臟，中醫認為刺激該穴位能調理胃氣，類似於現代醫學的影響胰臟分泌，先前我們的研究已知電針中脘穴可促進分泌胰島素，但對昇糖激素 (glucagons) 則無影響<sup>1</sup>。本研究結果認為 2Hz 電針中脘的降糖作用有大量的腦內啡來自於末梢的腎上腺，然後經由胰島素的分泌而達到降低血糖的作用，另外電針中脘穴血中胰島素的上升幅度大於電針足三里穴，這些可能與中脘穴較接近胰臟有關。足三里穴在解剖上與胰臟相距甚遠，但能促進胰島素的分泌而調降血糖。雖然刺激兩側的足三里穴所增加的量較刺激中脘穴少，但它所產生的降血糖作用卻較大。除了由傳統的經絡學理論可得到解釋外，另外去腎上腺及納絡酮前處理的大白鼠，皆無法使 2Hz 電針足三里穴降血糖作用消失，由此推測刺激足三里穴的降糖機轉是多途徑的，可能有腎上腺以外且非內生性嗎啡的機轉參與其中，須作進一步的探討。從本研究結果發現，電針中脘關元穴所激發的腦內啡較足三里有顯著差異，可能與中脘穴的神經節斷較接近腎上腺有關 (表 3, 4)。我們發現電針足三里的降糖作用比電針中脘關元穴大，猜想可能與激發腎上腺以外非內生性嗎啡的機轉有關。

因此我們的結論是 2 Hz 電針大白鼠中脘關元穴有大量的腦內啡來自腎上腺刺激血清胰島素的分泌而導致血糖下降。2 Hz 電針兩側足三里穴，其降血糖作用僅部份來自腎上腺，導致可能有非經由內生性的腦內啡降血糖作用機轉參與其中，但須進一步的研究。本研究證實了傳統中醫理論針刺不同俞穴確能產生不同的效果，也說明了針灸治療學的遠部取穴與循經取穴，確有實質意義。

## 誌謝

僅以本文感謝國科會提供，計畫編號 89-2314-B-039-046 及 90-2320-B-039-020 經費及 89 年度博士班研究生獎助。

## 參考文獻

1. Chang SL, Lin JG, Chi TC, Liu IM, Cheng JT. An insulin-dependent hypoglycaemia induced by electroacupuncture at the Zhongwan (CV12) acupoint in diabetic rats. *Diabetologia* 42:250-255,1999.
2. Chen XH, Han JS. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav Brain Res* 47:143-149,1992.
3. Chen XH, Geller EB, Adler MW. Electrical stimulation at traditional acupuncture sites in periphery produces brain opioid-receptor-mediated antinociception in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 277:654-660, 1996.
4. He LF, Involvement of endogenous opioid peptides in acupuncture analgesia. *Pain.* 31:99-121, 1987.
5. Ulett GA, Han S, Han JS. Electroacupuncture: mechanisms and clinical application. *Biol Psychiatry* 44:129-138,1998.
6. Chen XH, Han JS. All three types of opioid receptors in the spinal cord are important for 2/15 Hz electroacupuncture analgesia. *Europ J Pharmacol* 211:203-210,1992.
7. Bouix O, Najimi A, Lenoir V, Kerdelhue B, Orsetti A. Endogenous opioid peptides stimulate post-exercise insulin response to glucose in rats. *Int J Sports Med* 17: 80-84,1996.
8. Curry DL, Bennett LL, Li CH. Stimulation of insulin secretion by beta-endorphins (1-27 & 1-31). *Life Sci* 40:2053-2058, 1987.
9. Evans AA, Khan S, Smith ME. Evidence for a hormonal action of beta-endorphin to increase glucose uptake in resting and contracting skeletal muscle. *J Endocrinol* 155:387-392,1997.
10. Liu IM, Chi TC, Chen YC, Lu FH, Cheng JT. Activation of opioid mu-receptor by loperamide to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett* 265:183-186, 1999.
11. Liu IM, Niu CS, Chi TC, Kuo DH, Cheng JT. Investigations of the mechanism of the reduction of plasma glucose by cold-stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuroscience* 92:1137-1142, 1999.
12. Burris JF, Waeber B, Brunner HR. Cardiac mass in glucocorticoid-hypertensive rats with and without circulating adrenaline. *Cardiovasc Res* 19:734-736,1985.
13. Wakade AR, Malhotra RK, Sharma TR, Wakade TD. Changes in tonicity of perfusion medium cause prolonged opening of calcium channels of the rat chromaffin cells to evoke explosive secretion of catecholamines. *J Neurosci* 6:2625-2634, 1986.
14. Tang F. Endocrine control of hypothalamic and pituitary met-enkephalin and beta-endorphin contents. *Neuroendocrinology* 53 Suppl 1: 68-76, 1991.
15. Yu Y, Kasahara T, Sato T, Asano K, Yu G, Fang J, Guo S, Sahara M, Hisamitsu T. Role of endogenous interferon-gamma on the enhancement of splenic NK cell activity by electroacupuncture stimulation in mice. *J*

Neuroimmunol 90:176-86,1998.

16. Romita VV, Yashpal K, Hui-Chan CW, Henry JL. Intense peripheral electrical stimulation evokes brief and persistent inhibition of the nociceptive tail withdrawal reflex in the rat. Brain Res 761:192-202,1997.





## COMPARISON OF HYPOGLYCEMIC EFFECT IN DIFFERENT ACUPOINTS RESPONSE TO 2 HZ ELECTROACUPUNTURE

Shih-Liang Chang<sup>1,3,4</sup>, Jaung-Geng Lin<sup>1,4</sup>, Ching-Liang Hsieh<sup>2,4</sup>,  
Juei-Tang Cheng<sup>3,4</sup> and Tzu-Lang Chang<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Chinese Medical Science, China Medical College*

<sup>2</sup>*Internal Medicine of Chinese Medicine Department, China Medical College Hospital  
Taichung, Taiwan*

<sup>3</sup>*Chinese Traditional Medicine Research Center; National Cheng Kung University  
Tainan, Taiwan*

<sup>4</sup>*Developmental Foundation of Chinese Medicine  
Chang-Hwa, Taiwan*

(Received 1<sup>st</sup> February 2002, revised Ms received 27<sup>th</sup> February 2002, accepted 27<sup>th</sup> February 2002)

According to the theory of Traditional Chinese Medicine (TCM), Different acupoints have different effects. Through the meridian theory, Chinese physician can get the acupoint for disease treatment via following the meridian and/or far from the focus of disease. Aim of this study is to compare electrostimulating Zhongwan/ Gwanyuan with bilateral Zusanli acupoints and using the change of plasma glucose as indicator to prove this theory. In this study, male wistar rats were divided into experimental and control group randomly. Adrenalectomized rats (ADXr) were stimulated for 30 min to observe the change of plasma glucose at Zhongwan/ Gwanyuan or bilateral Zusanli acupoints by 2Hz electroacupuncture (EA) in experimental group. Plasma  $\beta$ -endorphin and insulin were detected by ELISA method for exploring the relationship with the changed plasma glucose. All of above result compared with the rats of control groups that were sham-operated. Furthermore, naloxone (1mg/kg, i.v.) was injected to block the opioid receptors sufficiently before EA for 30 min in normal wistar rats and to investigate the different influence of plasma glucose between these two sites. As our data showed, there was a significant hypoglycemic action in both sites, and plasma  $\beta$ -endorphin and insulin increased remarkably in control groups. In experimental groups, the hypoglycemic effect disappeared after electro stimulating Zhongwan/Gwanyuan with 2Hz EA and partial lowering plasma glucose was observed at bilateral Zusanli with the same frequency of stimulation, furthermore plasma  $\beta$ -endorphin and insulin no significant changed after stimulating both acupoints. In normal wistar rats, naloxone can block the hypoglycemic effect in Zhongwan/Gwanyuan totally, but only partially block in Zusanli stimulated by 2Hz EA.

Basis of above result, we suggested that the hypoglycemic effect all came from adrenal gland and following the pathway of endogenous opioid peptide (EOP) effecting via insulin secretion after EA at Zhongwan/Gwanyuan with 2Hz frequency. Only partial lowering plasma effect came from adrenal gland and another hypoglycemic mechanism excluding EOP pathway participate in electro stimulating bilateral zusanli with the same frequency that must study further.

**Key words:** Electroacupuncture, Zhongwan, Zusanli,  $\beta$ -endorphin, Insulin, Glucose.