

Resting-state functional MRI evaluation of after-effect of acupuncture at Zusanli point

LONG Yu^{1*}, LIU Bo¹, LIU Xian¹, YAN Chao-gan², CHEN Zhi-guang¹, CHEN Jun¹,
SHANG Xiao-jing¹, MO Wei-zhao¹

(1. Department of Radiology, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China; 2. State Key Laboratory of Cognitive Neuroscience and Learning, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

[Abstract] **Objective** To investigate time related changes in resting-state activity induced by acupuncture at Zusanli point with resting-state functional MRI (fMRI). **Methods** Seventeen healthy volunteers were acupunctured separately at Zusanli point (ST 36, bilateral legs) in this study. The resting-state fMRI data was acquired before and at 10, 25, 45 and 60 min after acupuncture. Paired *t*-test was used to analyze the changes of amplitude of low-frequency fluctuation (ALFF) of resting-state brain activity between the pre- and post-acupuncture of the each timepoint. **Results** ALFF increased significantly reached maximum at 10 and 25 min, including bilateral occipital lobe, bilateral temporal lobe, left precuneus, left inferior parietal lobule, left postcentral gyrus, left cerebellum posterior lobe, right anterior and posterior cingulate gyrus. ALFF decreased gradually at 45 and 60 min after acupuncture, including bilateral occipital lobe, left precuneus, left inferior parietal lobule, left superior parietal lobule and right posterior cingulate gyrus. **Conclusion** Acupuncture at Zusanli point can influence the resting-state brain activity conspicuously, and the after-effect of acupuncture is most remarkable at 10 min and 25 min after acupuncture.

[Key words] Resting-state; Magnetic resonance imaging; Amplitude of low-frequency fluctuation; Zusanli; After-effect

静息态功能磁共振评价针刺足三里穴后效应

龙 玉^{1*}, 刘 波¹, 刘 岷¹, 严超贛², 陈志光¹, 陈 俊¹, 尚小静¹, 莫伟钊¹
(1. 广州中医药大学第二附属医院, 广东省中医院放射科, 广东 广州 510120; 2. 北京师范大学
认知神经科学与学习国家重点实验室, 北京 100875)

[摘要] **目的** 研究针刺足三里穴后引起静息态脑功能活动的时间变化规律, 探讨针刺后效应。 **方法** 对 17 名健康志愿者, 采集针刺双侧足三里穴拔针后的第 10、25、45 和 60 min 的静息态功能磁共振数据, 利用 REST 软件计算低频振幅 (ALFF), 然后用 SPM5 与针刺前相应数据进行配对 *t* 检验, 得到拔针后上述 4 个时间点相对于针刺前脑区 ALFF 的变化及其趋势。 **结果** 针刺足三里穴拔针后引起了脑部 ALFF 变化, 拔针后第 10 和第 25 min ALFF 显著增高脑区数量最多, 主要包括双侧枕叶、双侧颞中回、左侧楔前叶、左侧顶下小叶、左侧中央后回、左侧小脑后叶、右侧扣带回及右侧扣带后回等; 拔针后第 45 和第 60 min ALFF 显著增高脑区逐渐减少, 主要包括双侧枕叶、左侧楔前叶、左侧顶下小叶、左侧顶上小叶及右侧扣带后回等。 **结论** 针刺后效应对静息态脑网络活动产生显著影响, 拔针后第 10 和 25 min 为针刺后效应重要时间点。

[关键词] 静息态; 磁共振成像; 低频振幅; 足三里; 后效应

[中图分类号] R445. 2; R245 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2009)03-0373-04

[基金项目] 广州中医药大学研究基金(08CX77)。

[作者简介] 龙玉(1972 -), 男, 湖南株洲人, 博士, 主治医师。研究方向: 神经系统影像诊断。

[通讯作者] 龙玉, 广州中医药大学第二附属医院(广东省中医院)放射科, 510120。E-mail: jackyulong@163.com

[收稿日期] 2008-10-29 **[修回日期]** 2008-12-16

功能磁共振成像 (functional magnetic resonance imaging, fMRI) 技术已成为研究针灸机制的新手段。然而,目前针刺 fMRI 研究集中在针刺穴位引起脑功能区的激活,即针刺的即时效应,而对针刺后效应的研究非常缺乏。Raichle 提出的大脑在无任务的静息状态下存在着有组织的脑区功能活动,即生理基线脑活动,这些脑区的活动构成了一个特定的功能性神经网络,即脑默认网络。针刺的即时效应和后效应都建立在基线脑活动基础之上,研究针刺穴位对基线脑活动的影响是理解针刺即时效应和后效应的基础。本文采用静息态 fMRI 低频振幅 (amplitude of low-frequency fluctuation, ALFF) 方法研究临床常用的足三里穴,旨在从针刺穴位拔针后对基线脑活动影响的角度探讨针刺后效应及其变化趋势。

1 资料与方法

1.1 试验对象 健康志愿者 17 名,其中男 7 名,女 10 名,年龄 23 ~ 26 岁,平均 (24.6 ± 0.3) 岁;均为右利手,受教育程度都为大学本科以上;均无精神神经系统疾病史,参加试验前一周内无服用镇痛药物史。所有被试者在试验前被告知试验内容,签署了知情同意书,并被告知有权在试验的任何时候退出。

1.2 试验仪器 苏州天一针灸器械有限公司生产的 0.35 mm × 25 mm 无菌银针;Siemens 1.5T 超导 MR 扫描仪,专用 MR

检查橡皮耳塞。

1.3 试验方法

1.3.1 静息态 fMRI 扫描方法 被试者在清醒、静息状态下平卧于检查床,闭目平静呼吸,使用泡沫头垫固定头部并最大限度减少头部及其他部位的主动和被动运动,同时要求不进行任何系统性思维活动,使用橡皮耳塞降低噪音,待被试者熟悉环境后开始扫描。

1.3.2 针刺双侧足三里穴方法 参考临床针刺时间,先后针刺双侧足三里穴,得气后留针并开始计时,分别在第 7、14 min 捻针 1 min,留针至第 20 min 拔针。所有试验都由一位经验丰富的针灸医生负责针灸。

1.4 数据采集 静息态 fMRI 共扫描 5 次,分别在针刺前、拔针后第 10、25、45 和 60 min 采集脑功能数据。采用标准正交头颅线圈,静息态 fMRI 扫描序列采用 T2* -EPI-GRE 序列,参数:TR/TE 2000/30 ms,反转角度 90°,层厚 5 mm,间隔 1 mm,FOV 220 mm × 220 mm,矩阵 64 × 64,扫描时间 6 min;解剖图像采用三维快速扰相梯度翻转恢复 (3D-SPGR) 序列,成像参数:TR/TE 24/6 ms, flip angle 35°,层厚 0.9 mm,FOV 220 mm × 220 mm,矩阵 256 × 256。

1.5 数据处理 应用统计参数图 SPM5 软件对静息态 fMRI 原始数据进行预处理,包括 DICOM 格式转换、层面定时、头动校

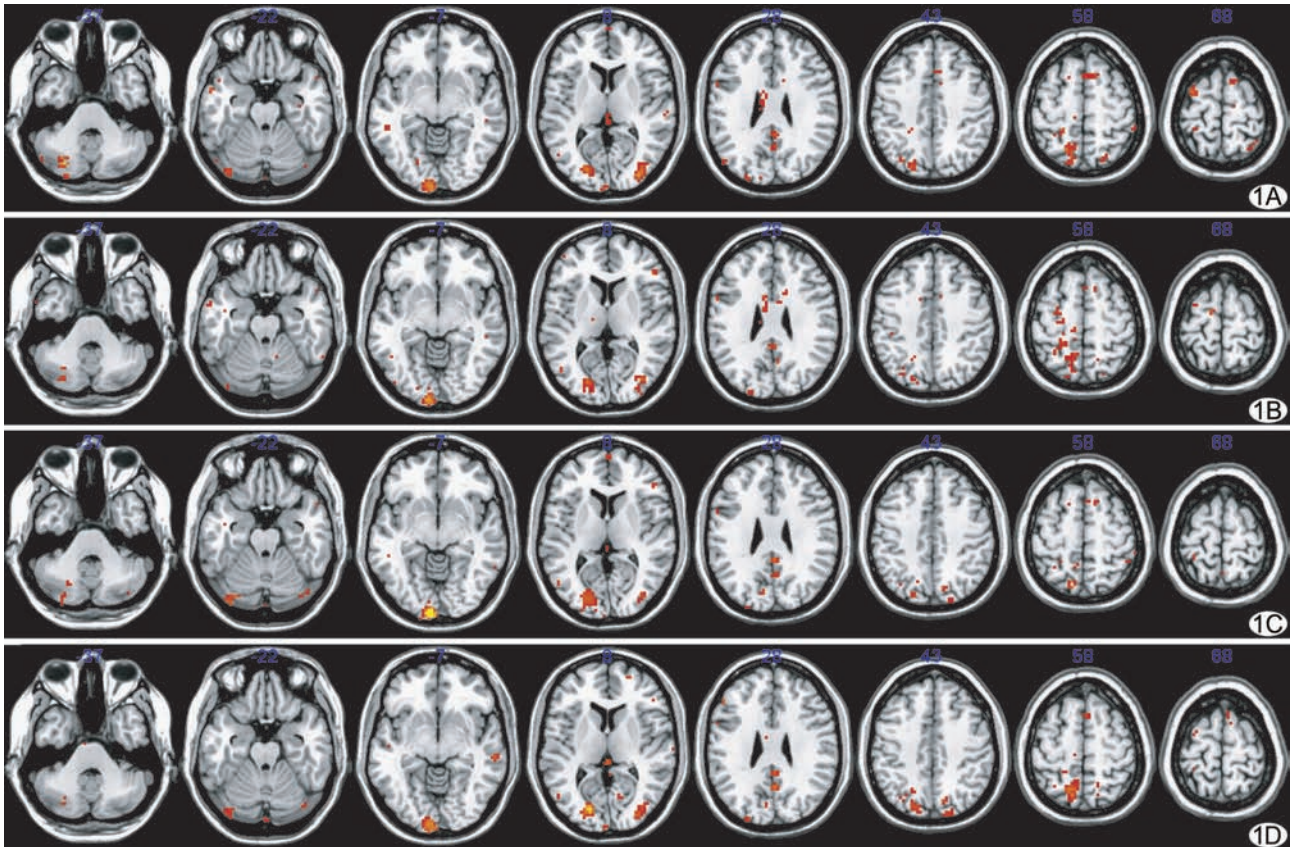


图 1 脑区 ALFF 变化图 A. 拔针后第 10 min; B. 拔针后第 25 min; C. 拔针后第 45 min; D. 拔针后第 60 min (观察者左侧即为图像左侧,观察者右侧即为图像右侧)

正、空间标准化和空间平滑五个步骤, 然后进行 ALEF 分析。依据头动校正曲线, 将头动平移 > 1 mm 和 (或) 转动 > 1° 的数据剔除。采用 6 mm × 6 mm × 6 mm 半高全宽的高斯核进行空间平滑处理。

采用 REST 软件, 先将预处理后的数据用线性回归方法去除其线性趋势, 然后用 Hamming 带通滤波对提取的时间-曲线进行卷积处理, 提取其低频振荡信号幅值 (0.01 ~ 0.08 Hz)。ALFF 具体计算原理和方法见参考文献 [1]。每个体素的 ALFF 值除以全脑平均 ALFF 值, 得到标准化的 ALFF 值。采用 SPM5 对每个被试者拔针后 4 个时间点的标准化 ALFF 值分别与针刺前进行配对 *t* 检验, 检验参数均为 *t* = 3.73, *P* < 0.001, 未校正。大于 10 个以上有意义体素作为一个丛 (clusters), 最后获得上述 4 个时间点的脑区 ALFF 变化及趋势。

配对 *t* 检验结果利用 XjView 软件确定对应 MNI 坐标上有统计意义脑区的具体解剖位置, 最后采用 MRIcroN 软件将 *t* 检验结果以图像形式呈现。

2 结果

试验中 1 名被试者因为头颅未包全而被剔除, 最终有 16 名被试者数据被采用。

针刺足三里穴拔针后第 10、25、45 和 60 min 均引起了脑部 ALFF 变化 (图 1, 表 1 ~ 4)。拔针后第 10 和 25 min ALFF 显著增高脑区数量最多, 主要包括双侧枕叶、双侧颞中回、左侧楔前叶、左侧顶下小叶、左侧中央后回、左侧小脑后叶、右侧扣带前回及右侧扣带后回等; 拔针后第 45 和第 60 min ALFF 显著增高脑区逐渐减少, 主要包括双侧枕叶、左侧楔前叶、左侧顶下小叶、左侧顶上小叶及右侧扣带后回等。

表 1 拔针后第 10 min ALFF 增高脑区定位

脑区	BA	体积 (mm ³)	<i>t</i>	MIN 坐标		
				X	Y	Z
右侧额上回	6	190	8.00	3	15	60
左侧颞中回	21	47	13.96	-54	0	-30
左侧枕叶楔回	18	195	12.43	-3	-99	6
左侧枕叶舌回	-	-	11.67	-15	-96	-12
左侧枕叶楔回	17	-	9.14	-12	-99	-3
左侧小脑后叶	-	33	11.67	-27	-75	-36
右侧枕叶	-	68	10.80	33	-75	12
左侧楔前叶	7	202	8.19	-18	-60	57
右侧扣带后回	31	47	6.11	3	-45	27
右侧颞中回	21	11	6.72	60	-27	-9
右侧中央前回	-	14	5.79	45	-18	63
左侧顶下小叶	40	11	5.46	-42	-42	48
左侧中央后回	2	10	5.18	-51	-24	54

注: BA: Brodmann area; MNI: 蒙特利尔神经病学研究所神经空间

表 2 拔针后第 25 min ALFF 增高脑区定位

脑区	BA	体积 (mm ³)	<i>t</i>	MIN 坐标		
				X	Y	Z
左侧枕叶楔回	17	71	9.75	-9	-99	-6
左侧枕叶楔回	18	-	9.15	-3	-102	3
右侧枕叶	-	35	8.06	39	-78	6
左侧额上回	6	19	7.73	-9	9	54
左侧额下回	46	15	7.49	-48	48	3
左侧中央后回	4	28	4.38	-12	-39	63
左侧顶上小叶	7	24	6.82	-33	-66	48
左侧顶下小叶	-	-	4.57	-39	-57	48
右侧扣带前回	24	21	6.67	-12	12	36
左侧楔前叶	7	63	5.58	-9	-51	57
左侧小脑后叶	-	11	6.23	-30	-66	-36
右侧扣带后回	31	10	5.46	3	-42	27
左侧额中回	-	11	5.46	-27	-6	57

注: BA: Brodmann area; MNI: 蒙特利尔神经病学研究所神经空间

表 3 拔针后第 45 min ALFF 增高脑区定位

脑区	BA	体积 (mm ³)	<i>t</i>	MIN 坐标		
				X	Y	Z
左侧枕叶楔回	18	188	24.46	-3	-102	3
左侧枕叶舌回	18	-	17.36	-6	-102	-9
左侧楔前叶	-	167	8.31	-18	-75	33
右侧枕叶	-	30	7.95	36	-78	12
右侧扣带后回	-	56	7.88	3	-48	26
左侧小脑后叶	-	23	6.91	-30	-87	-39
左侧顶上小叶	7	10	5.95	-33	-69	45
左侧顶下小叶	40	10	5.36	-48	-39	51

注: BA: Brodmann area; MNI: 蒙特利尔神经病学研究所神经空间

表 4 拔针后第 60 min ALFF 增高脑区定位

脑区	BA	体积 (mm ³)	<i>t</i>	MIN 坐标		
				X	Y	Z
左侧枕叶楔回	17	68	14.88	-18	-81	9
左侧枕叶舌回	18	145	9.45	-6	-102	-9
左侧楔前叶	-	275	11.16	-18	-75	36
左侧顶上小叶	7	-	10.67	-33	-66	48
右侧枕叶	-	60	8.87	36	-78	12
右侧扣带后回	31	62	7.43	3	-60	24
右侧颞中回	-	12	6.61	60	-27	-6
右侧额上回	8	16	5.32	3	18	57

注: BA: Brodmann area; MNI: 蒙特利尔神经病学研究所神经空间

3 讨论

3.1 针刺后效应研究现状及意义 针刺穴位对脑活动的影响在神经影像学方面主要包括 fMRI 激活研究、SPECT 和 PET 的葡萄糖代谢研究。针刺穴位会引起某些脑区的激活或抑

制、葡萄糖代谢增加或降低,反映的只是针刺的即时效应^[2-5],但针刺对脑活动的影响还存在后效应^[6]。针刺可能会对静息态脑活动网络产生持久的后效应,这对理解针刺治疗机制有重要意义。

3.2 针刺后效应的变化规律 许建阳等^[7]采用改进时间簇分析方法对针刺合谷穴后效应进行 fMRI 研究,发现在拔针后 14 min 脑活动仍然出现兴奋或者抑制,与针灸学中的后效应现象比较吻合。

本研究显示,ALFF 显著增高脑区在拔针后第 10 和 25 min 数量最多,拔针后第 45 和 60 min 逐渐减少,大部分脑区位于脑默认网络;拔针后对静息态脑网络活动即基线脑活动的影响的确存在,其中对脑默认网络活动影响较为显著,拔针后第 10 和 25 min 可能为针刺后效应的重要时间变化点,与许建阳的试验结果相吻合。

国内针刺镇痛研究发现,针刺镇痛缓升缓降的生理过程至少需要 30 min 诱导时间(即针刺时间),穴位针刺至少具有 30 min 的后效应(即拔针后的效应),也与本试验结果提示的拔针后第 10 和 25 min 为针刺后效应的关键时间点一致。

3.3 ALFF 基本原理和生理意义 假设静息态脑血氧水平依赖信号在低频范围内有生理意义,则使用一个频段(0.01 ~ 0.08 Hz)内所有频率点上幅值的平均值来描述一个体素自发活动的强弱可从能量角度反映各个体素在静息状态下自发活动水平。目前静息态 fMRI 研究以功能连接较多,张洪英等^[8]证实了正常老年人以后扣带回为种子的脑默认网络;吴义根等^[9]采用组块设计和反减法获得负激活图,进一步验证了静息状态人脑默认网络活动假说,并发现静息状态时老年人视皮层活动比青年人活跃。静息状态下功能连接反映的是脑区间自发性低频波动的时序的相似性,而 ALFF 测量的是局部脑区活动的幅度。

最近研究^[10]发现,静息态睁眼和闭目两种条件下视觉区的 ALFF 有很大差异,说明 ALFF 至少可以区分这两种生理状态。Zang 等^[1]将 ALFF 用于儿童多动症研究发现,相对于正常儿童,儿童多动症患者右侧额下回、小脑、前扣带回、左侧感觉运动皮质和双侧脑干都有异常,与以往研究结果一致。

本试验结果表明,针刺穴位拔针后对静息态脑网络活动的影响的确存在,其中对脑默认网络活动影响较为明显。

[参考文献]

[1] Zang YF, He Y, Zhu CZ, et al. Altered baseline brain activity in children with ADHD revealed by resting-state functional MRI. *Brain Dev*, 2007, 29(2): 83-91.

- [2] Xiao YY, Du L, Hong BK, et al. Study on fMRI brain map in patients undergoing needling at Zusanli (ST36) by reinforcing method. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2008, 28(2): 122-125.
肖叶玉,杜丽,洪璧楷,等.手法针灸足三里穴脑内效应磁共振功能成像研究. *中国中西医结合杂志*, 2008, 28(2): 122-125.
- [3] Fu P, Jia JP, Xu M, et al. Changes of brain function in different areas of cerebral cortices due to electroacupuncture at the point ST36 through MRI. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 2005, 9(16): 92-93.
付平,贾建平,徐敏,等.电针足三里穴后脑功能磁共振成像显示不同脑区的激活变化. *中国临床康复*, 2005, 9(16): 92-93.
- [4] Shao GR, Song L, Zhang W. PET/CT imaging of brain function during acupuncture at the acupoint ST36 (Zusanli). *Journal of Practical Radiology*, 2007, 23(7): 890-892.
邵广瑞,宋磊,张伟.针灸足三里穴中枢调节机制的 PET/CT 脑功能成像的实验研究. *实用放射学杂志*, 2007, 23(7): 890-892.
- [5] Hu JW, Wang W, Qi JP, et al. A study of the effects of acupuncture on normal subjects as detected by fMRI. *Chin J Phys Med Rehabil*, 2005, 27(3): 160-162.
胡军武,王苇,漆剑频,等.正常人体针灸效应功能性磁共振成像的研究. *中华物理医学与康复杂志*, 2005, 27(3): 160-162.
- [6] Liang FR, Liu YX, Luo R, et al. Investigation on post-effects of different needling methods on β -endorphin in the hypothalamus in the rat of acute adjuvant arthritis. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2004, 24(11): 782-784.
梁繁荣,刘雨星,罗荣,等.不同针刺方法对急性佐剂性关节炎大鼠下丘脑 β -内啡肽的后效应观察. *中国针灸*, 2004, 24(11): 782-784.
- [7] Xu JY, Yan B, Wang W, et al. Cerebral function imaging research on the after-effect of point Hegu acupuncture. *Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion*, 2005, 24(10): 33-35.
许建阳,闫斌,王葳,等.针刺合谷穴后效应的脑功能成像研究. *上海针灸杂志*, 2005, 24(10): 33-35.
- [8] Zhang HY, Wang SJ, Yang M, et al. Study of default-mode network in fMRI in normal elders. *Chin J Med Imaging Technol*, 2008, 24(8): 1189-1191.
张洪英,王世杰,杨明,等.正常老年人静息状态脑功能磁共振的默认网络研究. *中国医学影像技术*, 2008, 24(8): 1189-1191.
- [9] Wu YG, Zhao XH, Wang PJ. Health aging modulation brain activity of the resting state human in visual cortex. *Chin J Med Imaging Technol*, 2007, 23(9): 1270-1273.
吴义根,赵小虎,王培军.正常老化对视皮层静息状态脑活动的影响. *中国医学影像技术*, 2007, 23(9): 1270-1273.
- [10] Yang H, Long XY, Yang Y, et al. Amplitude of low frequency fluctuation within visual areas revealed by resting-state functional MRI. *Neuroimage*, 2007, 36(1): 144-152.