

# 基于光学成像技术的针灸镇痛机理研究

黄义梅 杨洪钦 谢树森

(福建师范大学激光与光电子技术研究所, 医学光电科学与技术教育部重点实验室,  
福建省光子技术重点实验室, 福建 福州 350007)

**摘要** 疼痛治疗是一个医学难题。虽然人们对痛觉感受机理的认识已达到细胞分子水平, 但现代医学疗法对疼痛尤其是慢性疼痛的治疗仍无良策。针灸镇痛疗法因副作用小、疗效好而逐渐获得西方认可。尽管针灸镇痛在临床上得到了验证, 但是其机理尚未明确。正电子发射断层扫描(PET)、单光子发射计算机断层扫描(SPECT)和功能磁共振成像(fMRI)、免疫组织化学等技术已被应用于针灸镇痛机理的研究。然而, 这些技术在分辨率或无损检测等方面存在局限性, 限制了它们在针灸镇痛机理研究中的进一步应用。介绍了采用光学成像技术研究针灸镇痛的机理, 其中重点评述激光扫描共聚焦显微成像术、光学相干层析成像术及活体动物光学成像术在针灸镇痛机理研究中的应用。

**关键词** 光学成像; 针灸镇痛; 激光扫描共聚焦显微成像术; 光学相干层析成像术; 活体动物光学成像术; 一氧化氮; 钙离子; 动作电位

中图分类号 R318.51 文献标识码 A doi: 10.3788/LOP48.111701

## Study of Acupuncture Analgesic Mechanism Based on Optical Imaging Technology

Huang Yimei Yang Hongqin Xie Shusen

(Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine, Ministry of Education, Fujian Provincial Key Laboratory of Photonic Technology, Institute of Laser and Optoelectronics Technology, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350007, China)

**Abstract** Pain remains challenge to treat, despite advances in cellular and molecular understanding of pain. Acupuncture analgesic has been accepted by west society due to low side effect and good performance. Although the effect of acupuncture analgesic has been confirmed clinically, its mechanism is still unclear. Positron emission tomography, single photon emission computed tomography, functional magnetic resonance imaging and immunohistochemistry have been applied in the study of the mechanism of acupuncture analgesic. However, poor resolution or invasion of these techniques limits their application in further study. It is suggested that optical imaging techniques, especially laser scanning confocal microscopy, optical coherent tomography and *in vivo* optical imaging system, could be utilized in the study of the mechanism of acupuncture analgesic.

**Key words** optical imaging; acupuncture analgesic; laser scanning confocal microscopy; optical coherent tomography; *in vivo* optical imaging; nitric oxide; calcium; action potential

**OCIS codes** 170.4500; 170.1790; 110.4500; 180.1655; 180.5810

## 1 引言

疼痛是一种保护性的生理过程, 它能提醒人们躲避外界伤害或防止受到更严重的伤害。但是, 当疼痛剧烈或者转换成慢性疼痛时, 它将严重影响人们的生活质量, 例如癌症性疼痛<sup>[1]</sup>。随着研究的深入, 人们对疼痛机理的认识已达到细胞、分子层面<sup>[2]</sup>。背根神经节细胞在痛觉感受中起重要作用, 它有外周和中枢轴突, 分别支配目标器官和脊髓。只有当刺激强度达到伤害阈值时, 痛觉感受器才会兴奋, 这说明它们拥有选择性

收稿日期: 2011-05-17; 收到修改稿日期: 2011-07-02; 网络出版日期: 2011-09-03

基金项目: 国家自然科学基金(60978071)资助课题。

作者简介: 黄义梅(1978—), 男, 博士研究生, 主要从事生物医学光子学方面的研究。E-mail: ymir.huang@gmail.com

导师简介: 谢树森(1940—), 男, 教授, 主要从事生物医学光子学等方面的研究。E-mail: sxxie@fjnu.edu.cn

探测外周损伤刺激的生理和分子功能。痛觉感受器主要分为两类:第一类是有髓鞘的传入神经纤维 A $\delta$ ,主要是探测快速疼痛;第二类是无髓鞘的传入神经纤维 C,主要探测慢速疼痛<sup>[3]</sup>。伤害刺激通过瞬时受体电位产生通道和嘌呤通道转化成电活动,产生动作电位,形成输入信息。输入信息的整合与处理过程部分发生于脊髓背角中,脊髓背角中的净输出通过多个途径传递到脑部特定区域。例如,侧脊髓丘脑束反映多种传感输入,从脊髓内各种神经元到侧丘脑,被认为与处理感觉和鉴别疼痛有关<sup>[3]</sup>。神经系统可塑性是产生慢性疼痛的一个关键因素。可塑性不仅发生在功能层面,而且还发生在结构层面,这也使得疼痛的机理更为复杂<sup>[3]</sup>。

有多种分子能激活细胞表面受体从而调节脊髓处理疼痛过程,其中主要的受体包括配体门控离子通道、G 蛋白偶联受体和酪氨酸激酶受体。配体门控离子通道能调节神经元兴奋性,主要的离子通道受体有 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)和  $\alpha$ -氨基羟甲基恶唑丙酸(AMPA)型谷氨酸受体、三磷酸腺苷(ATP)门 P2X<sub>2</sub> 型离子通道。受各种神经递质和神经调节器(如谷氨酸、腺苷、ATP、阿片肽和前列腺素)激活的 G 蛋白偶联受体(GPCRs)调节疼痛过程的时间长达数秒到数分钟。受体酪氨酸激酶(RTKs)可被几种生长因子激活,且激活时间长达数分钟到数小时。被激活的信号传感器能够直接或间接地调整基因转录,能够长期调整疼痛<sup>[3]</sup>。

虽然人们对疼痛机理的认识有了长足的进展,但是对止痛剂的研究进展缓慢。迄今为止,现代医学疗法对于疼痛尤其是慢性疼痛的治疗尚无行之有效之良策<sup>[4]</sup>。其中,主要是因为受到止痛剂副作用以及耐药性的限制。针灸镇痛在中国及亚洲地区已施行了数千年,因副作用小、疗效好而逐渐获得西方的认可。1996年,美国食品药品监督管理局将针灸疗法等级从三级提升到二级。1997年,美国国立卫生研究院发布通告,声称针灸对特定疾病,如疼痛、恶心、呕吐等有效<sup>[5]</sup>。尽管针灸镇痛的疗效得到了临床应用的验证<sup>[6~15]</sup>,但是其镇痛机理尚未明确。

## 2 针灸镇痛机理研究进展

针灸刺激对脑功能影响的研究是针灸镇痛机理研究的一个重要方向。其中常用的检测技术包括功能核磁共振成像技术、正电子发射断层扫描技术和单光子发射计算机断层扫描技术<sup>[16]</sup>。Wu 等<sup>[17]</sup>利用功能核磁共振成像技术研究电针刺刺激常用止痛穴位点(GB34)对脑功能的影响,结果表明电针刺刺激能够激活脑中枢疼痛通路。为了研究电针刺刺激对疼痛的调节效果,Zhang 等<sup>[18]</sup>利用功能核磁共振成像技术测试健康志愿者在寒痛刺激下对电针和伪针的反应,所获得的脑功能图像表明电针增加了双边体感区的活性,降低了对侧初级躯体感觉区的活性,但是伪针则对脑功能图像没有影响。Alavi 等<sup>[19]</sup>采用正电子发射断层扫描技术观察到慢性疼痛患者具有不对称的丘脑,在针灸治疗后,丘脑的不对称性消失了。Newberg 等<sup>[20]</sup>利用单光子发射计算机断层扫描证实了这一点。

针灸镇痛分子机理的研究也是一个重要研究方向。早期的研究重点是针灸与内源性阿片肽(如  $\beta$ -内啡肽、脑啡肽、内吗啡肽以及强啡肽)的相关性<sup>[21]</sup>。1976年,Pomeranz 和 Chiu 发现注射阿片受体拮抗剂-纳洛酮能够阻止针灸引起的镇痛效果。基于已知的疼痛通路(如图 1 所示)<sup>[3]</sup>,他们提出一种针灸镇痛模型,即针灸刺激激活肌肉中的 A $\delta$  和 C 传入纤维,使信号传送到脊髓,并促使局部强啡肽和脑啡肽释放。这些传入通道延伸到中脑,触发一系列兴奋和抑制调节器,释放出神经递质,如羟色胺、多巴胺和去甲肾上腺素,进而在突触前后阻止、抑制疼痛信号的传递<sup>[16]</sup>。韩济生等<sup>[22]</sup>发现在正常动物模型中,低频电针刺刺激释放  $\beta$ -内啡肽、脑啡肽、内吗啡肽,随后激活  $\mu$ 、 $\delta$  阿片样受体;而高频电针刺刺激释放强啡肽,激活  $\kappa$  阿片样受体。

越来越多的研究表明一氧化氮参与针灸镇痛过程<sup>[23~26]</sup>。一氧化氮是一种重要的内源性气体分子,涉及

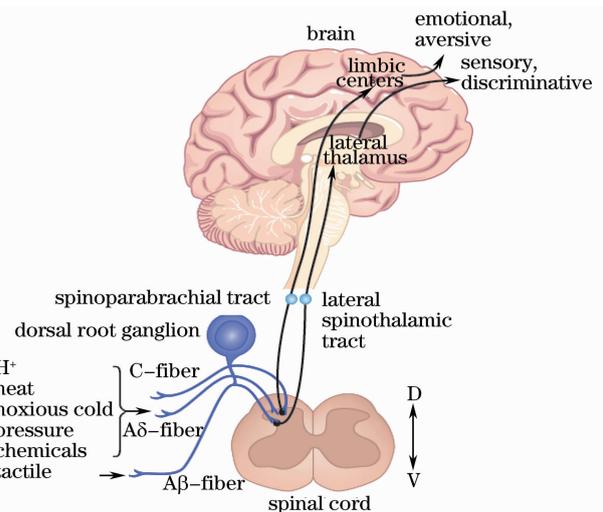


图 1 疼痛通路示意图。其中神经纤维 A $\delta$  有髓鞘,神经纤维 C 无髓鞘

Fig. 1 Schematic of main physiological pain circuits. With A $\delta$  fibers myelinated, C-fibers unmyelinated

各种生理与病理调节过程。一氧化氮激活鸟苷酸环化酶产生环鸟苷酸<sup>[27]</sup>参与镇痛。Jou 等<sup>[25]</sup>测试电针刺激穴位(郗门穴)对一氧化氮及环鸟苷酸的影响,发现电针刺刺激后,一氧化氮及环鸟苷酸的含量上升。基因敲除和药物抑制神经元型一氧化氮合酶(nNOS)能够减少神经损伤所致的机械痛觉过敏症状,表明 nNOS 可能参与神经损伤后的机械痛觉过敏。Tsuchiya 等<sup>[28]</sup>研究发现针灸能够增加一氧化氮的生成及加快局部血液循环。

近期一些研究表明腺苷 A1 受体也参与了针灸镇痛。Goldman 等<sup>[29]</sup>发现针灸能刺激腺苷的释放,且腺苷的镇痛作用需腺苷 A1 受体表达的存在。直接注射腺苷 A1 受体兴奋剂可以复现针灸镇痛效果。

### 3 针灸镇痛机理研究中的光学成像技术

虽然人们对针灸镇痛机理的研究取得一定进展,但是要完全揭示针灸镇痛的分子机理仍有很长的路要走。研究手段的局限是制约针灸镇痛机理研究进展的重要原因之一。与其他技术相比,光学成像技术具有分辨率高、非侵入性等综合优势,因此有望成为研究针灸镇痛机理的一种新方法。下面主要讨论激光扫描共聚焦显微成像术、光学相干层析成像术和活体动物光学成像术在针灸镇痛机制研究中的应用。

#### 3.1 激光扫描共聚焦显微术

激光扫描共聚焦显微镜主要由激光扫描装置和荧光显微镜两部分构成,利用计算机进行图象处理,从而得到细胞或组织内部微细结构的荧光图象。激光扫描共聚焦显微镜具有高分辨率,能够在亚细胞水平上观察诸如钙离子、pH 值、膜电位等生理信号及细胞形态的变化,已广泛应用于细胞生物学、生理学、病理学、解剖学、胚胎学、免疫学和神经生物学等领域。

激光扫描共聚焦显微镜不仅可以进行单细胞成像,而且可以对活体组织进行成像,是研究针灸镇痛机理的理想工具。尤其是采用双光子技术后,激光扫描共聚焦显微镜的成像深度得到很大程度的提升,更适合在活体上成像,有助于活体研究针灸镇痛效应,减少体外培养环境的干扰。

激光扫描共聚焦显微镜已应用于针灸研究中。例如,李瑞午等<sup>[30]</sup>提出利用激光扫描共聚焦显微镜技术研究针灸经络的思想,并利用激光共聚焦显微镜实验研究电针血清与正常血清对体外培养的大脑皮层细胞钙离子的影响<sup>[31]</sup>。黄光英等<sup>[32]</sup>利用激光扫描共聚焦显微镜观察了大鼠穴位区与非穴位区组织的缝隙连接蛋白 Cx43 表达差异以及针刺对其的影响。

虽然已有一些文献提出并验证了激光扫描共聚焦显微镜可用于针灸效应基础研究,但是要利用激光扫描共聚焦显微镜研究针灸镇痛机理,还须克服一个关键问题,即选择表征针灸镇痛的参数。鉴于当前针灸镇痛机理研究的进展,可认为一氧化氮、钙离子以及动作电位是在分子水平上能较好地表征针灸镇痛的几个参数。

##### 3.1.1 一氧化氮光学成像

许多研究证实针灸镇痛效应有一氧化氮的参与<sup>[23~26]</sup>。其参与镇痛的途径是通过激活鸟苷酸环化酶产生环鸟苷酸<sup>[27]</sup>。Jou 等<sup>[25,28]</sup>均发现针灸能够增加一氧化氮的含量。虽然这些研究表明了一氧化氮参与针灸镇痛,但是它们采用的检测方法大多为硝酸盐还原酶法,无法获得针灸刺激过程中一氧化氮含量的实时变化信息。利用一氧化氮特异性荧光染料(DAF-2 DA),激光扫描共聚焦显微镜可以测试单细胞水平的一氧化氮动态分布,有助于进一步研究一氧化氮参与针灸镇痛的机理。

##### 3.1.2 钙离子光学成像

多数疼痛调节器参与镇痛与其调节细胞内钙离子的能力相关。它们能激活钙离子相关激酶的活性,例如环氧化酶 2(COX-2),一氧化氮合酶(NOS)等。COX-2 和 NOS 的产物分别是前列腺素 E2(PG E2)和 NO,它们被认为扮演退行性信使功能,促进脊髓背角中初级传入末梢的神经递质释放<sup>[3]</sup>。结合钙离子荧光染料和激光扫描共聚焦显微镜可以检测细胞内钙离子的动态变化,并可以分析腺苷和神经肽对钙离子荧光信号的影响。人们可以依此研究基于腺苷或神经肽的针灸镇痛分子机理。

##### 3.1.3 动作电位光学成像

已经知道,伤害刺激通过瞬时受体电位产生通道以及嘌呤通道转化成电活动,并通过钠离子通道放大,产生动作电位<sup>[3]</sup>。因此,动作电位光学成像有利于深入研究针灸镇痛的分子机理。动作电位光学成像所用

的荧光染料主要有两种:一种是电压敏感染料<sup>[33]</sup>,另一种是细胞膜染料<sup>[34]</sup>。这两种染料的工作原理有所不同,电压敏感染料是根据荧光强度和膜内外电压差的依赖性而检测动作电位的;而细胞膜染料则是根据动作电位与二次谐波效应相一致原理来检查动作电位的。因此,相比较而言,细胞膜染料更适合活体组织的动作电位测量。尽管如此,由于动作电位的时间很短,所以即使在活体组织中测量针灸刺激对动作电位的影响也只能以单细胞的精度进行测量。

### 3.2 光学相干层析成像术

光学相干层析成像术(OCT)是基于宽带光的低相干特性,获得生物组织的内部微观结构层析图像的一种成像技术。它依靠光源的时间相干性,利用干涉仪对生物组织进行空间上的二维或三维扫描成像。光学相干层析成像术可以无损获得在分辨率和成像深度二者兼顾的组织结构。此外,还可以从所获取的图像信息中提取组织体的光学参数,如吸收系数、约化散射系数等<sup>[35]</sup>。

随着各种新技术的应用,例如快速扫频光源<sup>[36]</sup>和小波去噪法<sup>[37]</sup>,OCT成像速度以及检测深度都得到很大提高。

OCT也已应用于中医研究中。例如,曾常春等<sup>[38]</sup>提出将OCT技术用于大鼠舌象量化研究,钟会清等<sup>[39]</sup>利用光学相干层析成像术鉴别穴位点和非穴位点。

由于针灸效应能够促进局部微循环<sup>[28]</sup>,因此将引起组织光学参数的变化。可以根据这一特点利用OCT研究针灸镇痛机理,并将约化散射系数作为组织层面的针灸镇痛表征。由于OCT的穿透深度较深,所以适合在活体组织层面研究针灸镇痛的机理。

### 3.3 活体动物光学成像术

大脑负责各种疼痛信号的处理与反馈,例如脑干参与疼痛信号的整理辨析,丘脑参与疼痛信号的复杂分析、综合调整,大脑皮层是最高中枢,起到动态平衡作用<sup>[40]</sup>。因此,研究针刺效应对大脑功能影响是针灸镇痛机理的研究热点之一。功能核磁共振成像技术是应用最为广泛的技术之一,也获得了许多有意义的结果。但是,功能核磁共振成像技术所获得的结果只能间接地反映血氧饱和度和血流量,具有滞后效应,无法直接显示神经细胞的功能活动,因此,限制了它在实时快速检测中的应用。

活体动物光学成像术的出现可以弥补功能核磁共振成像的不足。活体动物光学成像术主要通过生物发光和荧光发光来成像。其中生物发光是利用荧光素酶基因标记细胞或DNA;而荧光发光是利用荧光报告基因标记。与荧光发光相比,生物发光的最大特点是灵敏度高<sup>[41]</sup>。活体动物成像术检测范围大、探测深度深、特异性强,特别适合研究针灸刺激对大脑基因表达的影响。张栋等<sup>[42]</sup>已利用活体体内光学成像技术初步研究针灸效应。该研究组往裸鼠尾部静脉注射Cy7修饰的转铁蛋白(Tf-Cy7)和阿霉素(Dox),并利用活体体内光学成像技术观察针刺对Tf-Cy7和Dox在体内分布的影响,实验结果显示Tf-Cy7主要集中在肝脏和脾脏,而Dox则主要聚集在脑部和肺等脏器。

### 3.4 光学成像术对比

上述3种光学成像技术有各自的优缺点,例如,激光扫描共聚焦显微镜的优点是分辨率高,但缺点是成像深度有限,尤其是对深层次组织的光学成像无能为力。与此相反,活体动物光学成像术穿透深度大,但是其分辨率却相对较低。因此,要根据实际需求将各种光学成像技术相结合,取长补短,发挥各自长处。

## 4 结 论

评述了针灸镇痛研究现状并指出目前针灸镇痛机理研究所存在的局限性,提出采用光学成像技术研究针灸镇痛机理的新方法。其中,重点阐述了激光扫描共聚焦显微成像术、光学相干层析成像术以及活体动物光学成像术在研究针灸镇痛机理中的应用。今后,可望在针灸诱导一氧化氮、腺苷以及阿片肽动力学的光学成像等方面开展进一步的探索性实验研究,并取得有意义的结果。

## 参 考 文 献

- 1 John T. Farrar. Advances in clinical research methodology for pain clinical trials[J]. *Nature Medicine*, 2010, **16**(11): 1284~1293
- 2 Allan I. Basbaum, Diana M. Bautista, Gregory Scherrer *et al.*. Cellular and molecular mechanisms of pain[J]. *Cell*, 2009,

- 139(2): 267~284
- 3 Rohini Kuner. Central mechanisms of pathological pain[J]. *Nature Medicine*, 2010, **16**(11): 1258~1266
  - 4 Clifford J. Woolf. Overcoming obstacles to developing new analgesics[J]. *Nature Medicine*, 2010, **16**(11): 1241~1247
  - 5 Acupuncture. NIH Consensus Statement[R], 1997, **15**(5): 1~34
  - 6 B. Brinkhaus, C. M. Witt, S. Jena *et al.*. Acupuncture in patients with chronic low back pain[J]. *Arch. Intern. Med.*, 2006, **166**(4): 450~457
  - 7 Chang Fangchia, Tsai Hueiyann, Yu Mingchien *et al.*. The central serotonergic system mediates the analgesic effect of electroacupuncture on Zusanli (ST36) acupoint[J]. *J. Biomed. Sci.*, 2004, **11**(2): 179~185
  - 8 R. M. Coan, G. Wang, S. L. Ku *et al.*. The acupuncture treatment of low back pain: a randomized controlled study[J]. *Am. J. Chin. Med.*, 1980, **8**(1-2): 181~189
  - 9 G. Goddard. Short term pain reduction with acupuncture treatment for chronic orofacial pain patients[J]. *Med. Sci. Monit.*, 2005, **11**(2): CR71~74
  - 10 D. Irnicha, N. Behrens, J. M. Gleditsch *et al.*. Immediate effects of dry needling and acupuncture at distant points in chronic neck pain: results of a randomized, double-blind, sham-controlled crossover trial [J]. *Pain*, 2002, **99**(1-2): 83~89
  - 11 D. P. Kerr, D. M. Walsh, D. Baxter. Acupuncture in the management of chronic low back pain: A blinded randomized controlled trial[J]. *Clin. J. Pain*, 2003, **19**(6): 364~370
  - 12 R. S. Kiser, M. Khatami, R. J. Gathel *et al.*. Acupuncture relief of chronic pain syndrome correlates with increased plasma met-enkephalin concentration[J]. *Lancet*, 1983, **322**(8364): 1394~1396
  - 13 E. Leibing, U. Leonhardt, G. Koester *et al.*. Acupuncture treatment of chronic low-back pain—a randomized, blinded, placebo-controlled trial with 9-month follow-up[J]. *Pain*, 2002, **96**(1-2): 189~196
  - 14 P. Manias, G. Tagaris, K. Karageorgiou. Acupuncture in headache: A critical review[J]. *Clin. J. Pain*, 2000, **16**(4): 334~339
  - 15 D. Melchar, K. Linde, P. Fischer *et al.*. Acupuncture for recurrent headaches: a systematic review of randomized controlled trials[J]. *Cephalalgia*, 1999, **19**(9): 779~786
  - 16 Shuming Wang, Zeev N. Kain, Paul White. Acupuncture analgesia: I. The scientific basis[J]. *Anesth. Analg.*, 2008, **106**(2): 602~610
  - 17 M. T. Wu, J. M. Sheen, K. H. Chuang *et al.*. Neuronal specificity of acupuncture response: an fMRI study with electroacupuncture[J]. *Neuroimage*, 2002, **16**(4): 1028~1037
  - 18 W. Zhang, Z. Jin, J. Huang *et al.*. Modulation of cold pain in human brain by electric acupoint stimulation: Evidence from fMRI[J]. *Neuroreport*, 2003, **14**(12): 1591~1596
  - 19 A. Alavi, P. LaRiccia, Ah Sadek *et al.*. Neuroimaging of acupuncture in patients with chronic pain[J]. *J. Altern. Complement Med.*, 1997, **3**: S41~53
  - 20 A. B. Newberg, P. J. Lariccia, B. Y. Lee *et al.*. Cerebral blood flow effects of pain and acupuncture: a preliminary single-photon emission computed tomography imaging study[J]. *J. Neuroimaging*, 2005, **15**(1): 43~49
  - 21 Jaunggeng Lin, Weiliang Chen. Acupuncture analgesia: A Review of its mechanisms of actions[J]. *The American J. Chinese Medicine*, 2008, **36**(4): 635~645
  - 22 J. S. Han, S. L. Sun. Differential release of enkephalin and dynorphin by low and high frequency electroacupuncture in the central nervous system[J]. *Acupunct. Sci. Int. J.*, 1990, **1**(1): 19~27
  - 23 Myeoung Hoon Cha, Sun Joon Bai, Kyung Hee Lee *et al.*. Acute electroacupuncture inhibits nitric oxide synthase expression in the spinal cord of neuropathic rats[J]. *Neuro. Res.*, 2010, **32**(s1): 96~100
  - 24 Huang Guofu, Zhang Hongxin, Zhang Tangfa *et al.*. Time-dependent analgesic effect of electroacupuncture at Jiaji acupoint in patients with lumbar disc herniation and its intervention on related factors of plasma [J]. *Chinese J. Clinical Rehabilitation*, 2006, **43**(10): 1~6  
黄国付, 张红星, 张唐法等. 电针夹脊穴治疗腰椎间盘突出症的镇痛时效及对血浆相关因子的干预[J]. *中国临床康复*, 2006, **43**(10): 1~6
  - 25 Nainn-tsy Jou, Shengxing Ma. Responses of nitric oxide-cGMP releases in acupuncture point to electroacupuncture in human skin in vivo using dermal microdialysis[J]. *Microcirculation*, 2009, **16**(5): 434~443
  - 26 Shengxing Ma. Neurobiology of acupuncture: Toward CAM [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2004, **1**(1): 41~47
  - 27 M. R. Byers, J. Bonica. Peripheral Pain Mechanisms. In: J. D. Loeser, S. H. Butler, R. C. Chapman *et al.* eds. *Bonica's Management of Pain*[M]. 3rd edn. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. 26~72

- 28 Masahiko Tsuchiya, Eisuke F. Sato, Masayasu Inoue *et al.*. Acupuncture enhances generation of nitric oxide and increases local circulation[J]. *Anesthesia & Analgesia*, 2007, **104**(2): 301~307
- 29 Nanna Goldman, Michael Chen, Takumi Fujita *et al.*. Adenosine A1 receptors mediate local anti-nociceptive effects of acupuncture[J]. *Nat. Neurosci.*, 2010, **13**(7): 883~889
- 30 Li Ruiwu, Jing Xianghong, Cai Hong. Confocal laser scan microscope system and its applications on studying acupuncture and meridian[J]. *Acupuncture Research*, 1995, **20**(2): 76~78  
李瑞午, 景向红, 蔡虹. 激光共焦扫描显微镜在针灸经络研究中的应用(推荐一种现代科学研究手段)[J]. 针刺研究, 1995, **20**(2): 76~78
- 31 Li Ruiwu, Zhang Jinling, Guo Ying *et al.*. Preliminary study on effect of acupuncture serum on  $Ca^{2+}$  content in cultured neurons of cerebral cortex[J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2005, **25**(5): 351~354  
李瑞午, 张金铃, 郭莹等. 针灸血清对大脑皮层细胞内钙离子的影响初探——针灸体液机理的研究[J]. 中国针灸, 2005, **25**(5): 351~354
- 32 Huang Guangying, Zheng Cuihong, Zhang Mingmin. Effect of acupuncture on expression of connexin 43 in “Zusanli” (ST 36) of the rat[J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2005, **25**(8): 565~568  
黄光英, 郑翠红, 张明敏. 针刺对大鼠“足三里”穴缝隙连接蛋白Cx43表达的影响[J]. 中国针灸, 2005, **25**(8): 565~568
- 33 M. Warren, K. W. Spitzer, B. W. Steadman *et al.*. High-precision recording of the action potential in isolated cardiomyocytes using the near-infrared fluorescent dye di-4-ANBDQBS[J]. *Am. J. Physiol. Heart. C.*, 2010, **299**(4): H1271~H1281
- 34 Daniel A. Dombeck, Mireille Blanchard-desce, Watt W. Webb. Optical recording of action potentials with second-harmonic generation microscopy[J]. *The J. Neuroscience*, 2004, **24**(4): 999~1003
- 35 Li Peng, Huang Run, Gao Wanrong. Experiment research on optical coherence tomography of human skin [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2498~2502  
李鹏, 黄润, 高万荣. 光学相干层析术在人体皮肤成像方面的实验研究[J]. 中国激光, 2009, **36**(10): 2498~2502
- 36 Ding Zhihua Chen Minghui, Wang Kai *et al.*. High-speed swept source and its applications in optical frequency-domain imaging[J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2469~2476  
丁志华, 陈明惠, 王凯等. 快速扫频光源及其在光学频域成像中的应用[J]. 中国激光, 2009, **36**(10): 2469~2476
- 37 Deng Juxiang, Liang Yanmei. Noise reduction with wavelet transform in optical coherence tomographic images [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(8): 2138~2141  
邓菊香, 梁艳梅. 光学相干层析图像的小波去噪方法研究[J]. 光学学报, 2009, **29**(8): 2138~2141
- 38 Zeng Changchun, Dong Haixin, Zhou Zheng *et al.*. Quantitative analysis on tongue manifestations in rats with spleen-stomach damp-heat syndrome by optical coherence tomography [J]. *J. Beijing University of Traditional Chinese Medicine*, 2008, **31**(10): 685~688  
曾常春, 董海新, 周正等. 应用光学相干层析成像技术对脾胃湿热证大鼠舌象的量化分析研究[J]. 北京中医药大学学报, 2008, **31**(10): 685~688
- 39 Huiqing Zhong, Zude Zhang, Zhouyi Guo *et al.*. Using OCT image to distinguish human acupoint from non-acupoint tissues after irradiation with laser in vivo: a pilot study[J]. *Chin. Opt. Lett.*, 2010, **8**(4): 418~420
- 40 Zhang Ji, Zhang Ning. Study on mechanisms of acupuncture analgesia[J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2007, **27**(1): 72~75  
张吉, 张宁. 针刺镇痛机制的探讨[J]. 中国针灸, 2007, **27**(1): 72~75
- 41 Zhang Yi, Han Yu, Zhao Chunlin. Current developments in animal in vivo optical imaging technologies with bioluminescence and fluorescence[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2006, **18**(1): 25~30  
张怡, 韩彧, 赵春林. 活体动物体内光学成像技术的研究进展[J]. 生命科学, 2006, **18**(1): 25~30
- 42 Zhang Dong, Peng Zuofu, Ma Huimin *et al.*. Pilot application of optical in vivo imaging on acupuncture research [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2009, **29**(12): 993~997  
张栋, 彭作富, 马惠敏等. 活体体内光学成像技术在针灸研究中的初步应用[J]. 中国针灸, 2009, **29**(12): 993~997