损毁大白鼠蓝斑或去甲肾上腺能上行背束对针刺镇痛作用的影响*

张德星 白耀辉 顾锡根 单红英 吴玮琳** 江振裕

(中国科学院上海生理研究所)

前一项工作曾报道,损毁大白鼠中缝核后针刺镇痛效应减弱[1],表明在生理情况下,中缝-5-羟色胺系统具有易化针效的功能. 中缝核是脑干网状结构的一部份. 近年的研究表明,脑干网状结构调节各级神经中枢活动的特点之一是,就某一种生理功能而言,一个区域行使易化作用,则往往有另一个区域行使压抑作用. 已知蓝斑和中缝核群之间通常呈功能拮抗的关系[2]. 因此,我们着手研究电解损毁蓝斑对针效的影响. 最近,陕西省中医研究所[3]报道,以嘶叫阈为指标,电解两侧蓝斑可提高针效. 考虑到电解损毁的范围较大,常波及邻近结构,于是另用 6-羟基-多巴胺(6-OH-DA)选择性地破坏含去甲肾上腺素(NA)神经元的功能. 由于蓝斑内 NA 神经元的上行纤维在中脑水平组成 NA 上行背束[4],所以,将该药注射在 NA 上行背束处,以观察对针刺镇痛效应的影响.

方　　法

共用 150 只雄性成年大白鼠,手术时体重在 250—350 克之间. 实验方法与前文[1]基本相同.

1. 痛阈测定和针刺方法　　每隔 5 分钟用等速增加的电流(在 9.6 秒内由零增加到 5 毫安)刺激动物尾部皮肤,分别测定引起甩尾和嘶叫两种痛反应的电流强度. 事前规定电流达到 5 毫安,动物仍无痛反应时,即将电路切断,其痛阈则以 5 毫安计算. 待动物的痛阈稳定后,取连续三次测定的均值作为甩尾阈和嘶叫阈. 针刺双侧环跳穴,通以 G6805 型治疗仪输出的疏密波电流,诱导 15 分钟. 然后在电针条件下,再测定痛阈三次. 以电针时痛阈均值减去电针前痛阈均值的差值代表针刺镇痛效应(简称针效). 手术后 3 天、8 天和 15 天各进行针刺实验一次. 整个实验过程中,测试痛阈的人员不了解手术的内容.

2. 电解损毁法　　按 Skinner[5] 方法固定鼠头. 将直径为 0.32 毫米的绝缘钢针电极(尖端约 0.02 毫米、裸露 0.3 毫米)后倾 22°,在横窦后 1 毫米以内、中线旁 1.2 毫米处插入,插入深度为前囟下 5.6—5.8 毫米,通以 100—150 微安的阳极电流 15 秒. 对照组只做模拟手术,其中 3 只还插入电极,但不通电流.

3. 化学损毁法　　用 6-OH-DA 在脑干红核水平损毁 NA 上行背束. 手术时将该药溶于含 0.1% 抗坏血酸的生理盐水,浓度为 4 微克/微升,pH 调至 4.0,置冰浴中保存. 用液压式微

本文 1977 年 6 月 13 日收到.

* 本文荧光组织切片由董新文、蒋芝华、付赉文三同志进行,组织学切片由杨福耀、徐慧娟两同志制作.

** 上海市立第一人民医院来所进修生.

推动器将药液缓慢地连续注射于NA上行背束的背外侧区．注射部位坐标为：A1.5—1.75毫米，RL1.4毫米，H—0.3毫米[5]．左右两侧各注射1微升，注射速度为1微升/5—7分钟；先注入0.5微升后，将注射针头上提0.3毫米，再注射完毕．这样可尽量减小注药造成的非特异损伤（图1）．对照组注射等容量的配药液．

4. 组织学检查　取脑干组织块作石蜡连续切片，片厚8—10微米，用焦油紫染色．检查并描绘损毁范围．在化学损毁组中，有5个脑标本还进行了荧光组织学检查，以证实NA上行背束损毁程度．

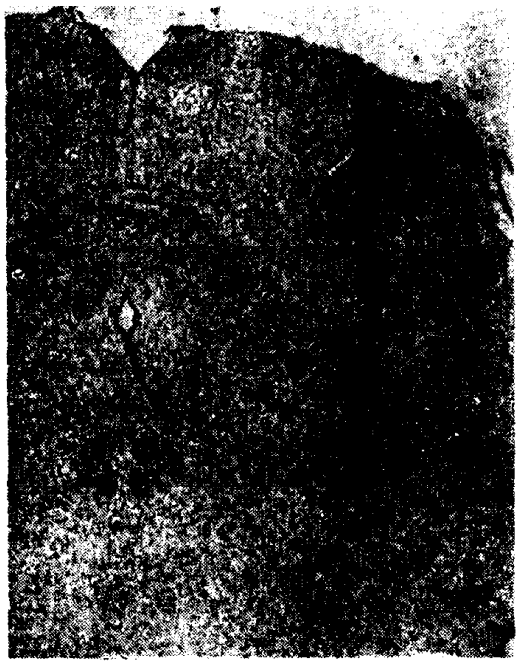


图1　中脑横切面的显微照片
示228号大白鼠右侧注射6-OH-DA的部位，放大倍数：20×



图2　脑干后段横切面的显微照片
示57号大白鼠蓝斑电解损毁灶，图中由上到下示脑干从前到后三个不同的平面，放大倍数：8.6×

结　果

1. 电解损毁蓝斑后血尿的出现和针刺镇痛效应的变化

41只动物中仅27只较完全地损毁了两侧蓝斑．图2示一例．这些动物在术后3天内全部出现严重血尿，尿中红血球完整，多半动物死亡，余下的至7—10天时血尿自行消失．尸体解剖发现脏器小血管扩张，膀胱粘膜尤著，致膀胱及尿道充满血尿及凝块．在6例双侧蓝斑小部分受损的大白鼠中，仅一例出现轻度血尿．这说明血尿可能是由于损毁了蓝斑的结果．

实验结果见表1．手术前，损毁组动物的痛阈及针效和对照组相似．术后两组动物的痛阈较术前均没有明显变化．但是，损毁组在术后3天（11只）的嘶叫阈针效较术前明显提高，增加的范围为0.6—3.6毫安，平均增加1.97±0.35毫安（$P<0.001$）；和对照组针效的变化值比，也有非常显著的意义（$P<0.001$）．术后8天时（5只），嘶叫阈针效已基本恢复，和术前比没有

表 1　电解损毁两侧蓝斑后痛阈和针效的变化

（均值±标准误．括号内为动物数）

	甩尾阈（毫安）				嘶叫阈（毫安）			
	术前	术后3天	8天	15天	术前	术后3天	8天	15天
损毁组 (11)△								
电针前	0.54±0.07	0.49±0.09	0.54±0.18	1.05±0.35	1.16±0.20	0.86±0.14	1.06±0.28	1.30±0.20
电针时	1.59±0.28	1.55±0.27	1.26±0.28	2.45±0.55	2.30±0.37	3.97±0.40	3.00±0.42	4.30±0.70
针效	1.05±0.22	1.06±0.26	0.72±0.33	1.40±0.91	1.14±0.25	3.11±0.37*	1.94±0.76	3.00±0.91
对照组 (11)								
电针前	0.47±0.10	0.45±0.06	0.49±0.09	0.61±0.15	0.78±0.15	0.76±0.12	1.06±0.09	1.15±0.21
电针时	1.49±0.21	1.02±0.14	1.39±0.19	1.41±0.16	2.52±0.24	2.55±0.35	2.88±0.54	3.06±0.49
针效	1.02±0.23	0.57±0.15	0.90±0.18	0.80±0.14	1.74±0.29	1.79±0.33	1.82±0.57	1.91±0.37

△ 该组动物在手术后发生严重血尿，提早处死，在手术后8天时仅存活5天，至术后15只时仅存活2只．　* 与术前比，$P<0.001$．

表 2　脑内注射 6-OH-DA 损毁 NA 上行背束后痛阈和针效的变化

	甩尾阈（毫安）				嘶叫阈（毫安）			
	术前	术后3天	8天	15天	术前	术后3天	8天	15天
注6-OH-DA组(14)▲								
电针前	0.38±0.05	0.51±0.05	0.42±0.06	0.48±0.05	0.62±0.09	1.04±0.18*	1.01±0.18	1.00±0.12
电针时	1.08±0.09	1.92±0.29	1.40±0.29	1.72±0.27	1.79±0.24	3.87±0.70	2.92±0.40	3.22±0.34
针效	0.70±0.09	1.41±0.28*	0.98±0.19	1.24±0.25	1.17±0.25	2.83±0.30**	1.91±0.34	2.22±0.30*
注配药液组(11)								
电针前	0.48±0.07	0.43±0.05	0.49±0.08	0.55±0.07	0.80±0.18	0.84±0.16	0.85±0.20	1.05±0.19
电针时	1.44±0.22	1.17±0.19	1.33±0.22	1.74±0.25	2.29±0.33	2.70±0.52	2.95±0.37	3.32±0.38
针效	0.96±0.17	0.74±0.17	0.84±0.20	1.19±0.24	1.49±0.28	1.86±0.50	2.10±0.27	2.27±0.36

▲ 术后15天时仅有13只动物．　* 与手术前比，$P<0.05$．　** $P<0.001$．

统计差别．术后 15 天时仅存活 2 只动物，因此嘶叫阈针效虽有增加，但没有统计意义．至于甩尾阈针效，损毁组手术前后则没有变化．手术前后对照组两种痛阈的针效也没有明显变化．

组织学切片显示，损毁范围除蓝斑外，还涉及室周灰质、前庭核、三叉神经中脑核，有时还损及小部分被盖区（图 2）．

另有 4 只动物仅损毁小部分蓝斑，术后未发生血尿，痛阈和针效也都没有明显的变化．

2. 化学损毁 NA 上行背束后针刺镇痛效应的变化

注 6-OH-DA 的动物共 14 只，无一例发生血尿，这与电毁蓝斑组有明显的差别．术后，动物一般情况较好，与注配药液组（11只）没有差别；至 15 天处死时，多数体重增加．手术前两组动物的痛阈与针效均没有统计学差异．注 6-OH-DA 后，甩尾阈和嘶叫阈都有不同程度的增加，其中仅术后 3 天的嘶叫阈增加值达到统计意义，$P<0.05$．应当指出，嘶叫阈针效在注药后 3 天比注药前有非常明显的增强，每只动物均较术前提高，范围为 0.3—3.6 毫安，平均增加 1.66 ± 0.33 毫安，$P<0.001$；这和注配药液组相比，具有显著差别，$P<0.05$；但与电毁蓝斑组相比，没有统计上的差异，$P>0.4$．术后 8 天嘶叫阈针效回降．可是在 15 天时针效又一次增强，$P<0.05$．至于甩尾阈针效，注药组在术后也有不同程度增加，其中仅术后 3 天的针效变化达到统计意义；与注配药液组相比，具有明显差异．以上实验资料列于表 2．

组织学切片显示，注药组动物在 NA 上行背束的背外侧处可见针迹或范围不大的胶质细胞增生区，图 1 示一例．其中有 5 个标本还作了荧光组织学检查，发现 NA 上行背束近胞体段轴突呈现 1—2 毫米长荧光物质堆积，而其远心段荧光物质很淡，说明药物已选择性地损毁了 NA 上行背束．

讨　论

1. 蓝斑和 NA 上行背束在针刺镇痛效应中的作用

本工作表明，电毁蓝斑后，甩尾阈针效不变，嘶叫阈针效提高．关于后一点，陕西省中医研究所[3]曾报道，损毁蓝斑后7—10天，嘶叫阈针效提高，这在时程方面和本文结果有些差别．可是，我们在化学损毁 NA 上行背束后，还观察到嘶叫阈针效提高的程度及时程和电毁蓝斑的结果也基本一致．此外，有人[6,7]曾报道：损毁蓝斑或 NA 上行背束后 3—4 天，前脑 NA 含量下降，5-羟色胺转换率增加；术后 7—10 天，它们恢复至对照水平；到术后 15 天时，前脑 NA 含量再次下降．这种变化的时程和本文所述针效提高的时程颇有相同之处．因此，我们推测术后 3 天针效的提高可能和前脑 NA 含量下降以及 5-羟色转换率增加有关．关于后一点，最近易庆成等[8]报道，针刺过程中脑内 5-羟色胺释放增加．

和电毁蓝斑不同，化学损毁 NA 上行背束除提高嘶叫阈针效外，还使甩尾阈针效有所提高．这可能是两种损毁方法不同所致．电解损毁时，损毁的范围难以控制，即使限于蓝斑，它也同时破坏了蓝斑内的 NA 和非 NA 神经元以及传入和传出纤维．而注射 6-OH-DA 就可以有选择性地损毁蓝斑内 NA 神经元的传出纤维．考虑到 6-OH-DA 的剂量和容积过大会产生非特异损害，我们在每侧仅用 4 微克 6-OH-DA，并分成两点注射，因此由注药引起的非特异性损伤是很小的；从荧光组织学检查看，这种用药方式是可以选择性地破坏 NA 上行背束的．由此表明，蓝斑 NA 神经元的活动，主要通过其上行背束，起到压抑针刺镇痛的作用；而在电毁时，可能由于同时破坏了脑桥内能增强甩尾阈针效的结构，因此使甩尾阈针效显示不出变化．

蓝斑虽是脑干网状结构中的小核团，但其传出纤维却广泛地投射到前脑、脑干和脊

髓[4,9-11]；和中缝核群一样，蓝斑对各级中枢的活动行使调节作用，它们之间有纤维联系[9,12]，且相互制约[2,13]．看来损毁蓝斑后针效加强的原因，一种可能是中缝核活动增强的结果，另一种可能则是去除了 NA 上行背束对前脑高级中枢活动的影响所致．前文[1]报道中缝核群有易化针效的功能，本文又观察到蓝斑呈压抑针效的作用．从实验结果来看，损毁蓝斑后针效虽提高，但并非无痛；损毁中缝核后，针效也不是完全消失，这说明脑干下段网状结构经常调节着脑内各级中枢对疼痛信息的整合．因此，我们认为：针刺镇痛原理之一是，针刺可以激发这种调节作用，表现为一方面提高中缝核群的活动，另一方面又降低蓝斑的活动，从而达到镇痛的效果．

2. 关于血尿问题

近来，关于蓝斑的研究显著增多，其中 Osumi 等[14] 提到损毁两侧蓝斑后动物出现血尿．但 Koob 等[15]认为：Osumi 等所述损毁蓝斑后产生的血尿与饮水增多，可能是由于损毁了背纵束的结果．可是，在我们的工作中，损毁一侧或两侧室周灰质包括背纵束在内的动物并不出现血尿．而在 27 只因损毁蓝斑出现血尿的动物中，两侧背纵束完全没有受损的有 10 只．看来，血尿的产生是由于损毁了两侧蓝斑所致．从以上结果联想到临床"特发性"血尿和运动性血尿的病因，是耐人寻味的．

小　　结

电毁大白鼠两侧蓝斑后，出现严重血尿；甩尾和嘶叫阈均不变．术后 3 天每只动物的嘶叫阈针效均有提高，平均增加 1.97±0.35 毫安，$P<0.001$；但甩尾阈的针效不变．用 6-OH-DA 化学损毁 NA 上行背束后，动物不出现血尿；术后 3 天嘶叫阈的增加值达到了统计意义，$P<0.05$．术后 3 天，每只动物的嘶叫阈针效均提高，平均增加 1.66±0.33 毫安，$P<0.001$；与电解损毁蓝斑组比，没有统计上的差异．术后 8 天时，针效回降；术后 15 天，嘶叫阈针效又一次提高，$P<0.05$．至于甩尾阈针效，仅术后 3 天的增加有统计意义．这些结果提示蓝斑可能主要通过NA上行背束，影响前脑的活动，从而在生理情况下压抑针刺镇痛作用．

参　考　文　献

[1] 江振裕等，科学通报，**22** (1977)，41—42.
[2] Samnin, R. & Garattini, S., *Life Sci.*, **17**(1975), 1201—1210.
[3] 陕西省中医研究所针麻原理研究室，陕西新医药，1976，1，66—68.
[4] Ungerstedt, J., *Acta Physiol. Scand., suppl.*, **367**(1971), 1—48.
[5] Skinner, J. E., *Neuroscience* (A Laboratory manual), Saunders Press, 1971, 195—211.
[6] Kostowski, W. *et al.*, *Brain Res.*, **82**(1974), 178—182.
[7] Worth, W. S. *et al.*, *Brain Res.*, **106**(1976), 198—203.
[8] 易庆成等，中国科学，1977．1，83—90.
[9] Loizou, L. A., *Brain Res.*, **15**(1969), 563—566.
[10] Roizen, M. F. *et al.*, *Brain Res.*, **104**(1976), 384—389.
[11] Nakamura, S. & Iwama, K., *Brain Res.*, **99**(1975), 372—376.
[12] Pierce, F. T. *et al.*, *Brain Res.*, **107**(1976), 137—144.
[13] Morgane, P. J. & Stern, W. C., in *Neurohumoral Coding of Brain Function*, Plenum Press, 1974, 289—309.
[14] Osumi, Y. *et al.*, *Brain Res.*, **86**(1975), 419—427.
[15] Koob, G. F. *et al.*, *Brain Res.*, **116**(1976), 339—345.