

## 中缝大核内注射 6-羟基多巴胺对大鼠电针镇痛的影响

董新文 蒋芝华 沈 铸 (中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

**提要** 用行为和荧光组织化学相结合的方法研究了在中缝大核区注射 6-OH-DA 后的荧光组织化学变化和对针刺镇痛的影响。大鼠在注药 3 d 后, 中缝大核内的 NA 能末梢荧光几乎完全消失, 针刺镇痛效应有所提高。对照组的大鼠在注射对照液 3 d 后, 针刺镇痛效应和单胺能神经元荧光组织化学反应无明显变化。实验结果在化学物质、神经结构和功能三者的结合上, 对中缝大核内 5-HT 和 NA 两种递质在针刺镇痛中的相互关系提供了证据。

**关键词** 电针镇痛; 中缝大核; 6-羟基多巴胺; 去甲肾上腺素能末梢; 单胺荧光

中缝大核是脑内重要的镇痛结构之一。针刺、吗啡或电刺激产生的镇痛都与中缝大核有关<sup>(1,2)</sup>。以针刺镇痛为例, 化学损毁中缝大核

的 5-羟色胺(5-HT)能神经元, 针刺镇痛效应(以下简称针效)显著减弱<sup>(3)</sup>, 刺激中缝大核, 针效明显增强<sup>(4)</sup>。荧光组织化学证实, 中缝大核除含 5-HT 能胞体外, 还接受大量的去甲肾上腺素(NA)能神经末梢的传入<sup>(5,6)</sup>。为了解中缝大核内 5-HT 和 NA 两种单胺能神经递质系统在针刺镇痛中的相互关系, 本实验用 6-羟基多巴胺(6-OH-DA)选择性地损毁中缝大核区的 NA 末梢, 保留 5-HT 细胞, 然后用荧光组织化学和行为相结合的方法, 观察损毁后组织化学变化及其对针刺镇痛的影响。

1981年2月11日收稿 1981年5月26日修回

## 材 料 和 方 法

成年♂性大鼠, 体重 250-300 g。实验分为注药和对照两组, 分别向中缝大核背侧区微量注射 6-OH-DA 及其配药液, 注药前和注药后 3 d 对大鼠进行测痛, 比较注药前后针效的变化。测痛后立即处死大鼠, 进行荧光组织化学制片和荧光显微镜观察<sup>(7)</sup>。

**1. 测痛和针刺** 痛刺激是以等速增加的直流电刺激大鼠尾部皮肤, 以甩尾和嘶叫作为痛反应指标, 将引起上述两种反应的电流强度作为“甩尾阈”和“嘶叫阈”。大鼠在针刺前, 每隔 5 min 测痛一次, 共测 3-5 次, 选痛阈稳定的大鼠在双侧“环跳”穴进行电针, 用 G 6805 型治疗仪, 通以疏密波电流进行电针刺激, 电针 30-40 min 后, 再每隔 5 min 测痛一次, 共测 3-5 次。用电针时的痛阈减去电针前的痛阈代表针效。

**2. 6-OH-DA 的微量注射** 用 0.2% 的抗坏血酸的生理盐水配制 6-OH-DA 2 μg/μl pH 4。大鼠用戊巴比妥钠麻醉后, 置于立体定位仪上, 为避免注射针尖(针尖外径约 120 μm)对中缝大核引起机械损伤, 我们将注射针尖插至中缝大核的背侧区。让药物注入核内。按坐标: P-3.0, H-0.7, L-0, 向核内恒速注入 6-OH-DA 2 μl, 10 min 注完, 注完后留针 10 min, 以防药液外溢。对照组按同样方法注

入配药液 2 μl。

**3. 荧光组织化学制片** 注药后 3 d 对大鼠进行电针效应测定。测完后, 立即处死, 迅速取脑, 经冰冻干燥、甲醛反应, 真空包埋和切片<sup>(8)</sup>。然后在 Zeiss 荧光显微镜下观察。

## 结 果

**1. 在中缝大核区注射 6-OH-DA 和配药液后针效的变化** 针效变化详见表 1。注药部位符合要求的大鼠 17 只, 其中注药组 8 只(注药部位见图 1), 对照组 9 只。注药组大鼠在给药 3 d 后, 甩尾阈和嘶叫阈的针效都有提高, 甩尾阈针效增加  $0.30 \pm (\text{SD}) 0.12 \text{ mA}$ ,  $P < 0.05$ ; 嘶叫阈针效增加  $0.47 \pm 0.09 \text{ mA}$ ,  $P < 0.01$ 。对照组大鼠注射配药液后 3 d, 甩尾阈和嘶叫阈变化不大。从表 1 还可看出, 注药组的基础痛阈, 即电针前的甩尾阈和嘶叫阈比注药前也略有提高, 而对照组的这两个阈值几乎没有变化。如果注药部位正好在中缝大核内, 使大核受到严重机械损伤时, 动物的针效大都下降。

## 2. 荧光显微镜观察

**2.1. 中缝大核及其邻近区的 NA 能神经末梢的形态和分布** 中缝大核位于延脑前端, 被盖部腹侧。其腹外侧与斜方体邻接, 背外侧为网状巨细胞核, 该核的前端与脑桥中缝核御接, 尾端与延脑中缝苍白核相连。Dahlström

Table 1. Changes in (electropuncture) effect after intracerebral injection of 6-OH-DA ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ )

	Tail-flick threshold (mA)		Vocalization threshold (mA)	
	Before 6-OH-DA	After 6-OH-DA	Before 6-OH-DA	After 6-OH-DA
<b>6-OH-DA group (8 rats)</b>				
Before electropuncture	0.34 ± 0.04	0.38 ± 0.10	0.37 ± 0.04	0.48 ± 0.16
During electropuncture	0.51 ± 0.08	0.85 ± 0.20	0.56 ± 0.08	1.14 ± 0.19
Increment of threshold	0.17 ± 0.05	0.47 ± 0.13*	0.19 ± 0.07	0.66 ± 0.10**
<b>Vehicle group (9 rats)</b>				
Before electropuncture	0.37 ± 0.04	0.36 ± 0.05	0.43 ± 0.04	0.45 ± 0.05
During electropuncture	0.56 ± 0.07	0.49 ± 0.06	0.72 ± 0.09	0.75 ± 0.14
Increment of threshold	0.19 ± 0.06	0.13 ± 0.05	0.29 ± 0.09	0.30 ± 0.12

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  compared with the value before 6-OH-DA

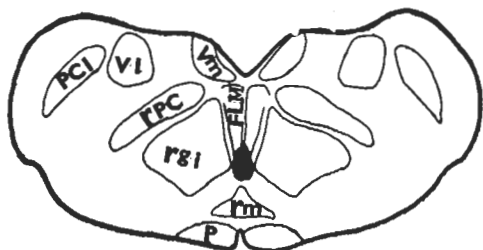


Fig 1. The stippled region shows site of injection.

FLM=fasciculus longitudinalis medialis; P=tractus corticospinalis; PCI=pedunculus cerebellaris inferior; rgi=nucleus reticularis gigantocellularis; rmi=nucleus raphe magnus; rpi=nucleus reticularis parvocellularis; VI=nucleus vestibularis lateralis; Vm=nucleus vestibularis medialis.

和 Fuze 以 B3 代表位于中缝大核及其附近的 5-HT 能胞体群。该群胞体较稀疏，正常情况下呈弱黄荧光。大量绿荧光的 NA 神经末梢终止于中缝大核区。末梢以中缝的狭长地区最稠密，荧光强，交织成网状，中缝两侧比较稀疏。末梢粗细不一，多呈念珠状，有点状或网状的。它们伸展在 5-HT 胞体之间，有的伸向或包围在胞体的表面，可能形成轴突胞体式接触。

2.2. 注药后中缝大核区 NA 神经末梢的变化 在荧光显微镜下，注药区的痕迹是不难发现的，其明显特征是：在注药区内，由于药物和注射针尖局部损伤脑组织而产生很强的自发荧光。荧光为不规则的颗粒状，呈棕褐色。在紫外光的照射下或湿度较高的环境中均不易退色。注药 3 d 后，中缝大核内 NA 神经末梢的荧光几乎完全消失，细胞间和细胞周围很难看到末梢荧光。但核内含 5-HT 的胞体不受影响(图 2A)。注射配药液的大鼠，中缝大核中的 NA 神经末梢和 5-HT 胞体都不发生变化(图 2B)。另外，在注药大鼠中，注药区的背外侧，即网状巨细胞核的背外侧和网状小细胞的背内侧区(图 2C)可看到强的绿荧光堆积(图 2D)。这是由于中缝大核区的 NA 末梢损毁后，被损轴突中 NA 积累的缘故。荧光堆积是含 NA 纤维或末梢已被损伤的痕迹，其堆

积区则是走向中缝大核区的 NA 神经末梢所经过的区域。

## 讨 论

中缝大核是含 5-HT 下行纤维系统的主要发源地，这些纤维经脊髓的背外侧索终止于脊髓的背角，特别是第 V 层；它在痛的调制中起着重要的作用<sup>(10)</sup>。中缝大核接受 NA 能的传入末梢，并与核内的 5-HT 细胞发生突触关系<sup>(6,9)</sup>因此研究中缝大核内 5-HT 和 NA 能两种神经元或神经递质在镇痛中的相互关系是有意义的。

本工作的主要发现是，在中缝大核区注射 NA 能纤维的化学切割剂 6-OH-DA 后，由于该核区内 NA 神经末梢荧光几乎完全消失，以致大鼠甩尾阈和嘶叫阈提高，针效增强。实验中的观察证明，针效的提高可能是由于 NA 神经末梢被损毁而产生的。

损伤中缝大核后，针效降低<sup>(3)</sup>。我们也观察到，当注射针尖插入中缝大核而造成组织严重损伤时，也出现针效减弱的现象。本实验中，镇痛效应的提高不十分明显，也可能与注射针尖对中缝大核的局部损伤有关。

我们过去的观察表明，针刺镇痛时，中缝大核内 NA 神经末梢荧光强度减弱，5-HT 胞体的荧光增强<sup>(11)</sup>。化学切割中缝背核区的 NA 神经末梢后，针效提高<sup>(7)</sup>。用 5,6-双羟色胺选择性地损毁中缝大核的 5-HT 胞体后，针效明显降低<sup>(8)</sup>。这些事实与本实验损毁中缝大核内 NA 神经末梢后，针效提高的结果是很好的印证。

本实验表明，中缝大核内的 NA 神经末梢的消失可能是针效提高的重要因素。实验结果支持我们以前的推断<sup>(7)</sup>；在正常情况下，NA 神经末梢对 5-HT 胞体的活动可能具有压抑或调制的作用，一旦这部分末梢受到破坏，5-HT 细胞由于失去压抑或调制而处于激活状态，而针刺效应的提高与 5-HT 细胞的激活有关。Hammond 等<sup>(12)</sup>将 NA 的拮抗剂酚妥拉

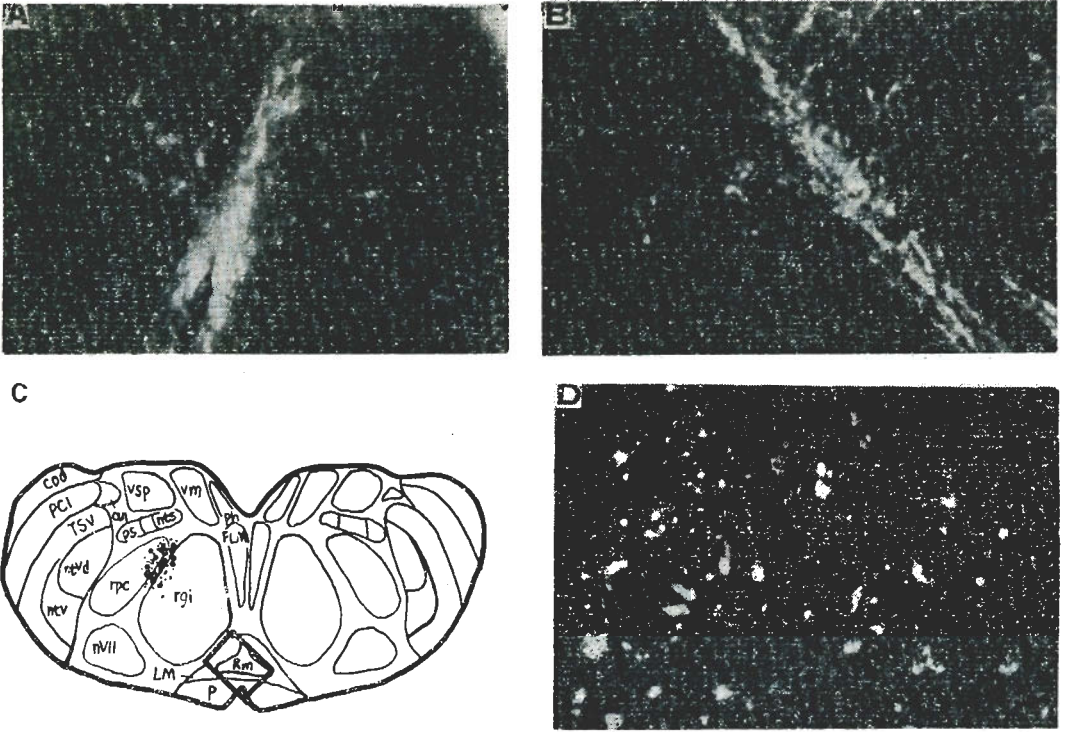


Fig 2. Changes in NA terminals in nucleus raphe magnus after injection of 6-OH-DA. A) NA terminals were almost extinguished after injection of 6-OH-DA.  $\times 200$ . B) NA terminals remained normal after injection of vehicle.  $\times 200$ . C) The framed area shows region of A and B, the stippled area shows region of D. D) Accumulation of fluorescent substance in neuronal axons dorsolateral to the site of 6-OH-DA.  $\times 300$

明注入中缝大核，发现痛反应减弱，也提出上述相似的看法。

关于中缝大核的 NA 能神经末梢的来源问题尚不清楚。桥脑的兰斑核和延脑的 A1、A2、A3 (按 Dahlström 和 Fuxe 的命名) 的 NA 能神经元，其神经末梢的一部分可能投射到中缝大核<sup>(6,8)</sup>。

致谢 单红英同志参加技术工作。

### 参 考 文 献

- 1 杜焕基、赵燕芳. 中国科学 1975 年 11 月; (6): 631
- 2 邹 冈、易庆成. 生理科学进展 1978 年 7 月; 9(1):2
- 3 杜焕基、沈 铿、董新文、蒋芝华、马维祥、傅来文、金国章、张振德、韩怡凡、俞蕾平、冯 洁. 动物学报 1978 年 3 月; 24(1):1
- 4 杜焕基、赵燕芳、郑瑞康. 生理学报 1978 年 7 月; 30(1):1
- 5 Chu NS, Bloom FE. *Brain Res* 1974 Jan 25; 66 (1):1
- 6 Fuxe K. *Acta Physiol Scand* 1965; 64 (Suppl 247):37
- 7 董新文、蒋芝华、傅来文. 生理学报 1979 年 7 月; 31(3):273
- 8 Falck B, Hillarp NA, Thieme GTA. *J Histochem Cytochem* 1962 Feb; 10(3):348
- 9 Dahlström A, Fuxe K. *Acta Physiol Scand* 1964; 62 (Suppl 232):1
- 10 Basbaum AI, Fields HL. *J Comp Neurol* 1979 Sep; 187(3):513
- 11 董新文、蒋芝华. 生理学报 1981 年 1 月; 33 (1):24
- 12 Hammond DL, Levy RA, Proudfit HK. *Pain* 1980 Aug; 9(1):85

## EFFECTS OF INTRACEREBRAL INJECTION OF 6-HYDROXY-DOPAMINE IN NUCLEUS RAPHE MAGNUS ON ELECTRO-PUNCTURE ANALGESIA IN RATS

DONG Xin-wen, JIANG Zhi-hua, SHEN E

(*Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031*)

**ABSTRACT** The effects of injection of 6-OH-DA into the nucleus raphe magnus were studied with both behavioral and fluorescence histochemical methods in rats. Eight rats were injected intracerebrally 6-OH-DA and 9 rats received a vehicle. Pain threshold was measured by tail-flick and vocalization following electric stimulation of the tail. The electropuncture analgesic effect was enhanced 3 d later. The fluorescence of NA terminals in the nucleus raphe magnus disappeared almost completely, while the

5-HT-containing neurons in the nucleus remained undamaged. The control rats showed no changes in electropuncture analgesia nor in histo-fluorescence findings. The results provide an evidence for the antagonism between NA and 5-HT in the nucleus raphe magnus in modulation of pain.

**KEY WORDS** electropuncture analgesia; nucleus raphe magnus; 6-hydroxydopamine; noradrenergic terminals; monoamine fluorescence