

损毁弓状核和阻滞导水管周围阿片受体拮抗去甲肾上腺素增强大鼠的电针镇痛作用¹

潘建粹、张振德²、俞蕾平²、吴爱莉、丁 玫、金国章²

(复旦大学生物系, 上海 200433; ²中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 大鼠下丘脑腹内侧核(HVM)注射去甲肾上腺素(NE)3 μg, 使电针镇痛明显增强, 从中脑导水管周围灰质(PAG)腹侧部微注纳洛酮能拮抗此作用。谷氨酸单钠选择性损毁下丘脑弓状核(AR)后, 上述增强效应消失, 并使下丘脑, 中央灰质, 垂体的亮脑啡肽含量明显下降。这表明AR和PAG腹侧的阿片系统参与HVM微注NE增强电针镇痛作用。

关键词 去甲肾上腺素; 下丘脑腹内侧核; 弓状核; 导水管周围灰质; 纳洛酮; 针刺止痛; 内啡肽受体

1986年10月4日收稿 1987年6月23日接受

¹ 本文部分内容曾于1984年第二届全国针灸针麻学术讨论会议上宣读。(北京)

本文作者曾证实大鼠下丘脑腹内侧核(HVM)注射去甲肾上腺素(NE, 3 μg)后, 使电针镇痛效应增强⁽¹⁾, 且能被纳洛酮所拮抗⁽²⁾, 提示脑内阿片系统参与了上述增强效应。已知HVM与下丘脑弓状核(AR)有神经纤维联系⁽³⁾, AR是阿片肽神经元集中处, 它的纤维投射到中脑导水管周围灰质(PAG)^(4,5)。在PAG有丰富的阿片受体⁽⁶⁾, 是镇痛的有效部位^(7,8)。因此, 作者设想, 在HVM微注NE的增强电针镇痛效应可能与AR阿片肽神经元和PAG阿片受体有关。为此, 应用谷氨酸单钠(MSG)选择性损毁大鼠AR后, 观察对NE增

强电针镇痛作用的影响。

方法和结果

用♂大鼠47只，体重 $218 \pm SD 18$ g，MSG损毁大鼠体重 245 ± 17 g，49只。二组体重相比差异显著 $p < 0.01$ 。将鼠分别置于圆形塑料筒内，在尾端1/3处安放一对电极，给予阶梯形方波刺激，电流渐增，引起甩尾反应，此时电流强度(mA)作为痛阈。每5 min测痛一次，取3次均值作为基础痛阈。然后，在双侧“环跳穴”(在脾枢中，臀大肌，梨状肌下缘)用G-6805型电针治疗仪的疏密波，强度由0.5渐增至1.5格，进行针刺诱导30 min，在诱导后第15 min开始测痛：每5 min测痛一次，共4次，取其均值为针刺诱导后痛阈，即针刺诱导值。注射针管外径0.4 mm，内径0.25 mm，注射液内含微量胶黑(amido black) B₁₀作定位标记。

出生后4-5 d的♂Wistar幼鼠，ip MSG $2 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d}) \times 5$ 。经MSG损毁105 d后大鼠，其外形较正常大鼠肥胖，有尾巴缺损等综合症状(图1)。取部分大鼠脑片检查，证实AR内神经元较对照组明显减少(图2)。将这种损毁AR的大鼠用于电针镇痛试验。

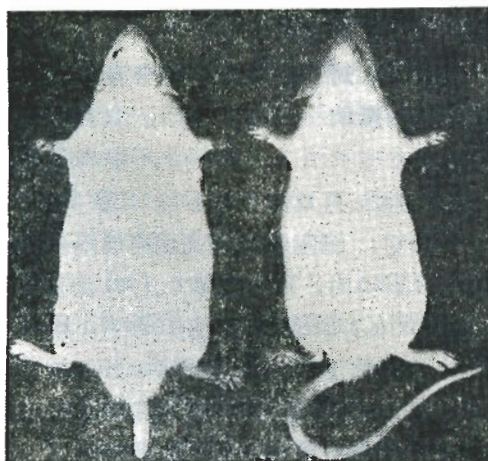


Fig 1. Monosodium glutamate (MSG) $2 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d}) \times 5$ administered to 5-d-old rats induced in adults a syndrome of obesity and tail autotomy. Control (right)

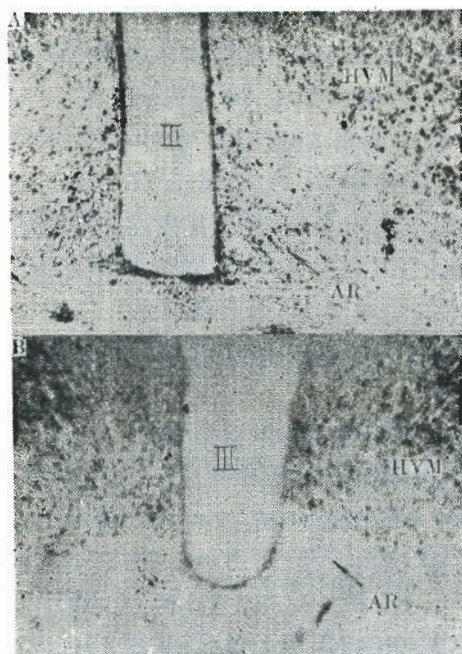


Fig 2. Coronal section of hypothalamus of (A) normal rat and (B) rat injected MSG. III=3rd ventricle. Arrows show cell bodies in arcuate nucleus (AR)

损毁AR对NE增强电针镇痛效应的影响
正常大鼠15只在HVM微注NE $3 \mu\text{g}$ ($3 \mu\text{l}$, 2 min)后3 h，进行电针诱导及测痛试验⁽²⁾，对痛阈无明显影响，但电针诱导值有明显增加，而17只损毁大鼠进行相同的试验时，上述的电针效应消失(表1)，说明AR是实现NE增强电针效应的重要部位。

大鼠7只，在HVM微注吗啡 $3 \mu\text{g}$ ($3 \mu\text{l}$,

Tab 1. Acupuncture analgesia in rats potentiated by injection of norepinephrine (NE) $3 \mu\text{g}$ ($3 \mu\text{l}$ in 2 min) into ventromedial hypothalamic nucleus. Threshold mA, I; basic pain threshold, II; acupuncture analgesia. Damaged; ip monosodium glutamate. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$; *** $p < 0.01$ vs I; † $p > 0.05$, ††† $p < 0.01$ vs II before injection of NE in the same group.

Injection		Control (n=15)	Damaged (n=17)
Before	I	0.2 ± 0.07	0.18 ± 0.05
	II	$0.3 \pm 0.08^{***}$	$0.26 \pm 0.04^*$
After	I	0.17 ± 0.06	0.17 ± 0.06
	II	$0.69 \pm 0.04^{\dagger\dagger\dagger}$	$0.27 \pm 0.07^{\dagger}$

2 min) 30-60 min 内, 痛阈由 0.23 ± 0.07 上升为 0.45 ± 0.09 mA, 差异非常显著 ($p < 0.01$) 持续约 60 min. 另有 AR 损毁的大鼠 12 只, 在 HVM 微注吗啡 $3 \mu\text{g}$ ($3 \mu\text{l}$, 2 min) 后, 作相同试验, 给药前后的痛阈分别为 0.2 ± 0.07 和 0.22 ± 0.04 mA, 则未见痛阈有明显的升高 ($p > 0.05$) 这说明在 HVM 微注吗啡所显示的镇痛作用也通过 AR 而实现。

阻滞 PAG 阿片受体对 NE 增强电针镇痛的影响

1. PAG 腹侧部微注纳洛酮 大鼠 7 只, 作基础痛阈和电针诱导测定后, 在 HVM 微注 (图 3) NE $3 \mu\text{g}$ ($3 \mu\text{l}$, 2 min), 随即在 PAG 腹侧部 (前囟后 6-6.5 mm, L 0.3-0.4 mm, H 7 mm 处) 微注生理盐水 $1 \mu\text{l}$ (1 min), 盐水对 HVM 微注 NE 无拮抗作用 (表 2)。

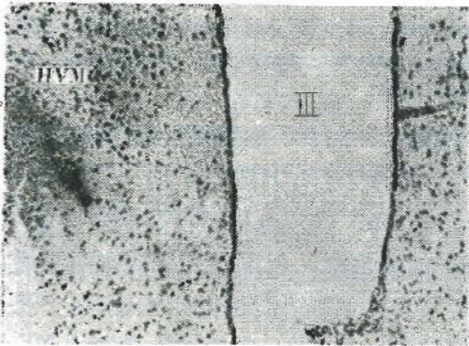


Fig 3. Transverse section of rat hypothalamus after injection of norepinephrine $3 \mu\text{g}$ mixed with amido black B_{10} into the ventromedial hypothalamic area (HVM). III = 3rd ventricle.

另有大鼠 11 只, 作相似的试验, 在 PAG 腹侧微注纳洛酮 (naloxone HCl 注射液, Endo Laboratories 出品) $0.4 \mu\text{g}$ ($1 \mu\text{l}$, 1 min) 能拮抗电针诱导效应 (表 2, 图 4 A)。这说明 PAG 腹侧的阿片受体参与 HVM 微注 NE 增强电针镇痛效应的作用过程。

2. PAG 背外侧微注纳洛酮 7 只大鼠在 HVM 微注 NE $3 \mu\text{g}$ ($3 \mu\text{l}$, 2 min), 随之在 PAG 背外侧微注纳洛酮 $0.4 \mu\text{g}$ ($1 \mu\text{l}$, 1 min), 给药后对痛阈无影响, 电针镇痛效应仍然明显出现

(表 2, 图 4 B), 这提示 PAG 背外侧不参与 NE 增强电针镇痛过程。

Tab 2. Effect of naloxone (Nal, $0.4 \mu\text{g}$ in $1 \mu\text{l}$ in 1 min) injected into periaqueductal gray (PAG) against the potentiation of NE ($3 \mu\text{g}$ in $3 \mu\text{l}$ in 2 min) on acupuncture analgesia (mA, $\bar{X} \pm \text{SD}$). I; basic pain threshold, II; acupuncture analgesia. vm; ventral medial PAG, dl; dorsal lateral PAG. ** $p < 0.05$ vs I; † $p > 0.05$, ††† $p < 0.01$ vs II before injection of NE + Nal or NE + saline in the same group.

Injection	NE + saline (vm, n = 7)	NE + Nal (vm, n = 11)	NE + Nal (dl, n = 7)
Before	I 0.14 ± 0.09	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.01
	II 0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.24 ± 0.01
After	I 0.15 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.18 ± 0.01
	II 0.59 ± 0.03	0.20 ± 0.01	0.70 ± 0.04

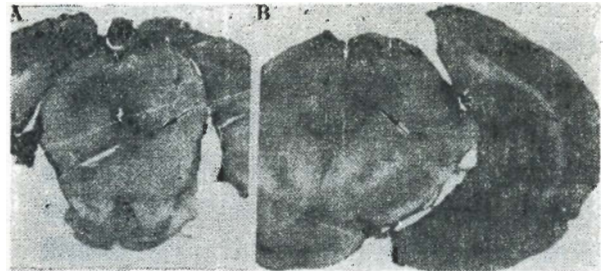


Fig 4. Site of injection of naloxone marked by amido black B_{10} (arrow) in ventral (A) and dorsal (B) periaqueductal gray of rats.

损毁 AR 对下丘脑垂体和中央灰质的亮脑啡肽含量的影响 大鼠断头后, 取脑放入煮沸的生理盐水中灭活 1-2 min 后, 分离脑区, 称重, 制成匀浆, 再离心 ($1000 \times g$), 取上清液, 保存于 -20°C , 测定脑组织亮脑啡肽 (Leu-enkephalin, LEK) 时, 取上清液 0.1 ml 加入 PELH 缓冲液 (即 0.1 磷酸缓冲液 100 ml , EDTA 钠 0.1 g , 溶菌酶 1 mg , 和洗必泰 200 mg)⁽¹¹⁾ 0.1 ml 放入塑料测定管中, 加入 1:5000 抗血清 0.1 ml 最后加 [^{125}I] LEK 0.05 ml (含 6000-8000 cpm), 总反应体积 0.35 ml , 抗血清最终浓度 1:17500, 并用非标记 LEK ($6.25-400 \text{ pg}$) 作标准曲线⁽¹²⁾, 在 4°C 孵育 24 h, 加入稀释的

1:12 正常兔血清 30 μ l, 及羊抗兔丙种球蛋白血清 50 μ l, 再孵育 24 h. 离心(1000 \times g, 4 $^{\circ}$ C) 15 min, 弃去上清液, 用单道 γ 能谱仪器测定沉淀物脉冲数, 按(B/F/Bo/Fo) 100%, 求得 LEK 值, 再根据脑匀浆量, 再换算为湿重脑组织(mg)的 LEK 含量。

结果, 对照组大鼠的下丘脑, 中央灰质与垂体内 LEK 放射强度分别为 148 ± 70 , 97 ± 30 和 111 ± 18 cpm, 当大鼠经 MSG 损毁 AR 后, 下丘脑, 中央灰质和垂体内 LEK 放射强度, 分别下降为 53 ± 29 , 49 ± 17 和 50 ± 13 cpm, 差异显著($p < 0.01$)。

讨 论

前文证实, 纳洛酮能阻滞大鼠 HVM 微注 NE 所增强的电针镇痛效应⁽²⁾, 因此设想下丘脑的阿片肽神经元参与此作用. 本文选用 MSG 专一性损毁下丘脑 AR 的 β -内啡肽神经元, 结果证实 MSG 确能如此, 因为从组织切片上观察到 AR 的神经元数目明显减少, 下丘脑和中央灰质的 LEK 明显下降, 成年大鼠外观变形和尾巴缺损, 这符合文献^(9,13)所载的特性, 应用这些损毁大鼠, 再在 HVM 微注 NE 的增强效应消失, 在 HVM 微注吗啡的镇痛作用亦完全消失. 所以, 有理由认为下丘脑的 β -内啡肽神经元参与上述的增强镇痛效应. 下丘脑 NE 末梢上有突触前阿片受体⁽¹²⁾, HVM 和 AR 的 β -内啡肽神经元有纤维联系^(3,5), 这些事实也支持上述结果的解释。

AR 的 β -内啡肽神经元有神经末梢支配在中央灰质^(5,9). 并有丰富的阿片受体, 是镇痛的重要部位⁽⁷⁾. 本文证实 PAG 腹侧部的阿片受体被阻滞, 在 HVM 微注 NE 增强电针镇痛效应也被拮抗, 说明它们参与此种增强作用, 而 PAG 背外侧则不参与。

上述事实说明 HVM 微注 NE 增强电针镇痛的作用, 是通过 AR 阿片肽神经元和 PAG 腹侧部的阿片受体而发挥作用的, 当 MSG 损毁 AR 的阿片肽神经元后, 有关内源性阿片肽

含量下降, 这些脑区的阿片系统功能被破坏, 故在 HVM 微注 NE 的增强电针效应亦因此消失。

参 考 文 献

- 1 潘建粹、张胜妹. 下丘脑微量注射去甲肾上腺素对电针镇痛的影响. 见: 张香桐、季钟朴、黄家骊, 主编. 针灸研究. 北京: 科学出版社, 1986: 245-50
- 2 潘建粹、金国章、洪庚辛. 下丘脑微量注射去甲肾上腺素增强电针镇痛作用的受体分析. 生理学报 1982; 34: 179
- 3 Cox B, Morris ID, Weston AH. *Pharmacology of the hypothalamus*. 1th ed. London: Macmillan, 1978: 7-8
- 4 Barchas JD, Akil H, Elliott GR, Holman RB, Watson SJ. Behavioral neurochemistry, neuroregulators and behavioral states. *Science* 1978; 200: 964
- 5 Bloom FE, Battenberg E, Rossier J, Ling N, Guillemin R. Neurons containing β -endorphin in rat brain exist separately from those containing enkephalin: Immunocytochemical studies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 1591
- 6 Pert CB, Snyder SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science* 1973; 179: 1011
- 7 邹 冈、张昌绍. 脑室内或脑组织内微量注射吗啡的镇痛效应. 生理学报 1962; 25: 119
- 8 Bennett GJ, Mayer DJ. Inhibition of spinal cord interneurons by narcotic microinjection and focal electrical stimulation in the periaqueductal central gray matter. *Brain Res* 1979; 172: 243
- 9 Bodnar RJ, Abrams GM, Zimmerman EA, Krieger DT, Nicholson G, Kizer JS. Neonatal monosodium glutamate. Effects upon analgesic responsivity and immunocytochemical ACTH/ β -lipotropin. *Neuroendocrinology* 1980; 30: 280
- 10 邹 冈、易庚成、吴时祥, 等. 脑啡肽在针刺镇痛中的作用: 放射免疫测定. 中国科学 1980; (5): 492
- 11 邱喜盛、符荣根、叶明皓、李迪元、陆以信、赵克胜. 人血浆脑啡肽物质放射免疫测定方法及其临床初步应用. 生理学报 1983; 35: 335
- 12 Schwartz JC, De La Baume S, Llorens C, Patey G, Pollard H. Presynaptic opiate receptors on catecholamine neurons in brain: Possible implications in tolerance and dependence

to opioides. *Adv Biosci* 1979; 18 : 137
 13 Krieger DT, Liotta AS, Nicholsen G, Kizer
 JS. Brain ACTH and endorphin reduced in

rats with monosodium glutamate-induced
 arcuate nuclear lesions. *Nature* 1979; 278 :
 562

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Mar; 9 (2) : 118-122

Potentiation of norepinephrine on rat acupuncture analgesia antagonized by arcuate nucleus lesion or naloxone blocked on opiate receptors in periaqueductal gray

PAN Jian-Cui, ZHANG Zhen-De¹, YU Lei-Ping¹, WU Ai-Ju, DING Mei, JIN Guo-Zhang¹
 (Fudan University, Shanghai 200433; ¹Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences,
 Shanghai 200031)

ABSTRACT Previously we found that injection of norepinephrine 3 μg (3 μl) in 2 min into the ventromedial hypothalamic nucleus in rats markedly potentiated the analgesic effect of electroacupuncture. The potentiation, in this experiment, was blocked by injection of naloxone 0.4 μg (1 μl) in 1 min into the ventromedial periaqueductal gray. Lesion of the arcuate nucleus with ip mono-sodium glutamate 2 g/(kg·d) \times 5 not only abolished the effect of norepinephrine, but also reduced the content of leu-enkephalin in the

hypothalamus central gray and pituitary gland ($p < 0.01$). These results indicated that opiate neurons in the arcuate nucleus and opiate receptors in ventromedial periaqueductal gray were involved in the potentiation of analgesic effect of electroacupuncture produced by norepinephrine.

KEY WORDS norepinephrine; ventromedial hypothalamic nucleus; arcuate nucleus; periaqueductal gray; naloxone; acupuncture analgesia; endorphin receptors