

# 毫针不同刺激强度对胃扩张疼痛大鼠脊髓背角NMDA受体和P物质的影响

彭艳, 易受乡, 李振海, 林亚平, 唐森

彭艳, 易受乡, 李振海, 林亚平, 唐森, 湖南中医药大学针灸推拿学院 经穴与脏腑相关重点实验室 国家中医药管理局三级实验室 湖南省长沙市 410007  
国家重大基础研究(973)基金资助项目, No. 2005-CB523306-9  
湖南省自然科学基金资助项目, No. 06JJ50049  
湖南省教育厅基金资助项目, No. 08C632  
作者贡献分布: 此课题由易受乡与林亚平设计; 研究过程由李振海、唐森及彭艳操作完成; 研究所用工具由易受乡、李振海及唐森提供; 数据分析由李振海与唐森完成; 本论文写作由彭艳与李振海完成。  
通讯作者: 易受乡, 教授, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学东塘校区. yishouxiang@yahoo.com.cn  
电话: 0731-5381161  
收稿日期: 2009-02-27 修回日期: 2009-03-26  
接受日期: 2009-03-30 在线出版日期: 2009-05-08

## Effect of acupuncture with varied intensity on NMDA and SP expression in spinal dorsal horn in rats with gastric distension-induced pain

Yan Peng, Shou-Xiang Yi, Zhen-Hai Li, Ya-Ping Lin, Sen Tang

Yan Peng, Shou-Xiang Yi, Zhen-Hai Li, Ya-Ping Lin, Sen Tang, Major Laboratory of Meridians and Viscera, Tertiary Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Institute of Acupuncture, Moxibustion and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China  
Supported by: the Major State Basic Research Development Program of China (973 program), No. 2005-CB523306-9; the Natural Science Foundation of Hunan, No. 06JJ50049; and the Subject of Hunan Education Department, No. 08C632  
Correspondence to: Professor Shou-Xiang Yi, Institute of Acupuncture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. yishouxiang@yahoo.com.cn  
Received: 2009-02-27 Revised: 2009-03-26  
Accepted: 2009-03-30 Published online: 2009-05-08

## Abstract

**AIM:** To explore the effect of varied intensity acupuncture on pain-ethology scoring and on expression of n-methyl-d-aspartate receptor (NMDA receptor) and substance P (SP) in spinal dorsal horn quasi-pain in rats with pain induced by gastric distension.

**METHODS:** Fifty healthy male Sprague Dawley

rats were randomly assigned to blank, sham operation, model, acupuncture of lighter stimulus intensity at "Zusanli" point and acupuncture of heavier stimulus intensity at "Zusanli" point groups. Gastric distention model was established by applying implanted aerostat in the gastric and filling in gas to 40 mmHg. Acupuncture of lighter and heavier stimulus intensity was applied. Pain-ethology scoring was observed and expression of NMDA receptor and SP was detected using immunohistochemical method.

**RESULTS:** Compared with sham operation group, pain-ethology scoring and expression of NMDA receptor in spinal dorsal horn of model group were increased significantly (both  $P < 0.01$ ). After acupuncture, pain-ethology scoring was decreased significantly ( $11.77 \pm 2.16$  vs  $22.83 \pm 1.87$ ,  $14.73 \pm 2.19$  vs  $21.73 \pm 2.30$ , both  $P < 0.01$ ). Compared with model group, expression of NMDA receptor and SP in spinal dorsal horn of the two acupuncture groups was decreased significantly ( $140.60 \pm 21.30$  vs  $240.20 \pm 25.59$ ,  $63.60 \pm 13.74$  vs  $108.67 \pm 11.37$ ;  $63.60 \pm 13.74$  vs  $108.67 \pm 11.37$ ,  $82.67 \pm 12.13$  vs  $108.67 \pm 11.37$ , all  $P < 0.01$ ), and acupuncture of lighter stimulus intensity group had more obvious effect.

**CONCLUSION:** Acupuncture at "Zusanli" could relieve stress reaction induced by gastric distension and decrease pain-ethology scoring, which is related to inhibited expression of pain correlation information substances (NMDA and SP).

**Key Words:** Acupuncture; Stimulus; Gastric distention; Visceral pain; Pain-ethology scoring; Dorsal root ganglion; Comu posterus medullae spinalis; N-methyl-d-aspartate; Substance P

Peng Y, Yi SX, Li ZH, Lin YP, Tang S. Effect of acupuncture with varied intensity on NMDA and SP expression in spinal dorsal horn in rats with gastric distension-induced pain. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(13): 1339-1345

## 摘要

**目的:** 探讨毫针不同刺激强度针刺足三里穴

## ■背景资料

内脏痛是临床上极为普遍的症状, 大都疼痛弥散, 难以定位, 伴有牵涉痛, 运动和自主神经反射增强, 皮肤肌肉组织痛觉增敏, 持续的刺激可以由不痛进展为疼痛等特点. 近年来的研究表明, 针灸对内脏痛、内脏痛觉增敏具有良好的调节作用.

## ■同行评议者

许玲, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长征医院中医科

## ■ 研发前沿

目前研究已表明,内脏痛信息在神经系统内的转导是一个相当复杂的过程,多条上行通路和高位中枢的许多核团参与其中,在这个过程中,神经元中的神经活性物质及受体、调节酶和钙离子通道对内脏痛信息的传递发挥了重要作用。尽管已经取得了一定的进展,但仍未能完全解释内脏痛复杂的产生机制及治疗机制,有待深入探讨。

后对胃扩张大鼠的拟痛行为学、脊髓背角N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体表达和P物质(SP)含量的影响。

**方法:** 50只大鼠按完全随机法分成5组,分别为空白组、假手术组、模型组、轻手法组和重手法组。采用胃内植入气囊并充气压40 mmHg造成胃扩张疼痛模型,轻手法和重手法针刺足三里穴为施治因素,以拟痛行为学评分标准观察其拟痛行为学,用免疫组织化学法检测脊髓背角中NMDA受体表达和SP含量。

**结果:** 与假手术组比较,胃扩张造模后,大鼠拟痛行为学评分和脊髓背角内NMDA受体均明显增加( $P < 0.01$ );轻、重手法针刺均能明显降低胃扩张疼痛大鼠的疼痛反应,与针刺前比较有非常显著性意义( $11.77 \pm 2.16$ 分 vs  $22.83 \pm 1.87$ 分,  $14.73 \pm 2.19$ 分 vs  $21.73 \pm 2.30$ 分,均 $P < 0.01$ );并能降低NMDAR受体( $140.60 \pm 21.30$  vs  $240.20 \pm 25.59$ ,  $63.60 \pm 13.74$  vs  $108.67 \pm 11.37$ ,均 $P < 0.01$ )、SP阳性细胞数( $63.60 \pm 13.74$  vs  $108.67 \pm 11.37$ ,  $82.67 \pm 12.13$  vs  $108.67 \pm 11.37$ ,均 $P < 0.01$ ),与模型组比较差异有非常显著性意义;且轻手法组优于重手法组( $P < 0.01$ )。

**结论:** 不同刺激强度针刺足三里后,减轻了胃扩张疼痛大鼠的应激反应,其作用机制是抑制脊髓背角内疼痛相关信息物质NMDA受体激活和SP的释放。

**关键词:** 毫针; 刺激; 胃扩张; 疼痛; 拟痛行为学评分; 背根神经节; 脊髓背角; N-甲基-D-天冬氨酸; P物质

彭艳, 易受乡, 李振海, 林亚平, 唐森. 毫针不同刺激强度对胃扩张疼痛大鼠脊髓背角NMDA受体和P物质的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(13): 1339-1345

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1339.asp>

## 0 引言

针灸治疗疾病已有几千年的历史,其操作手法经过历代的传承和发展,单式和复式手法有上百种之多。针灸的临床操作追求的是疗效,如何将这此手法简化操作,稳定并扩大疗效是当代针灸理论和临床研究者的重要课题。本课题组曾在以往研究中证明了针灸对胃运动、胃分泌具有调整作用,对胃黏膜具有保护作用,探讨其可能的机制,并从基因表达水平进行了研究<sup>[1-3]</sup>。针刺对胃痛有什么样的调整作用?现有资料表明针刺对内脏痛调整作用与其影响其感觉传入神经传入

通路上的递质有关,故本研究探讨针刺传入信号对其神经递质影响如何?其作用机制为何?不同毫针强度对内脏痛疗效是否有差异?我们选择胃扩张疼痛大鼠作为研究对象,观察毫针不同刺激强度对其拟痛行为学,脊髓背角N-甲基-D天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)受体表达、P物质(Substance P, SP)等含量的变化影响,探讨针刺缓解内脏痛是否通过影响其感觉传入通路上相关神经递质有关,并进一步比较不同刺激强度对这种变化是否存在差异,为针刺刺激量与针刺效应间关系的机制研究提供实验依据,也为针刺治疗胃痛临床和理论研究提供参考。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康SD  $\delta$  大鼠50只,清洁级,体质量270-310 g,月龄3-4 mo,由湖南中医药大学实验动物中心提供。SABC免疫组织化学试剂盒、Rabbit anti-Substance试剂、Rabbit anti-NMDAR-2B试剂、DAB显色素为武汉博士德生物技术有限公司生产。冰冻切片机(CM1850,德国莱卡),LEICA DM LB2型双目显微镜(德国LEICA公司),Motic B5显微摄像系统(麦克奥迪实业集团公司),MIAS医学图像分析系统(北京航空航天大学)。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 50只大鼠完全随机分为5组: A空白组, B假手术组(植入气囊但不做胃扩张), C胃扩张模型组, D胃扩张模型+毫针轻手法组, E胃扩张模型+毫针重手法组, 每组10只。

**1.2.2 造模:** 参照Rouzade *et al*<sup>[4]</sup>和Traub *et al*<sup>[5]</sup>报道的方法,术前禁食12 h,自由饮水。除空白束缚组外,其他各组均以下述方法植入气囊。术后给以青霉素抗炎,当天禁食,给以100 g/L葡萄糖10 mL大鼠尾静脉注射,次日按常规喂养,若3 d后仍不能自由活动、不进食饮水者予以剔除。于手术后3、11 d进行胃扩张,经改装的台式水银血压计通过一个三通管与胃扩张气囊软管及50 mL的注射器相连,给予40 mmHg<sup>[6]</sup>(1 mmHg = 0.133 kPa)压力的时相性胃扩张(充气5 min,间歇10 min,交替进行,15 min为1轮,共3轮),使大鼠产生胃扩张疼痛同时进行拟痛行为学评分。

**1.2.3 穴位定位:** 根据新世纪全国高等中医药院校规划教材《实验针灸学》<sup>[7]</sup>大鼠针灸穴位定位方法及拟人比照法定取足三里穴:又名后三里,在膝关节后外侧,腓骨小头下约5 mm处。

**1.2.4 针刺方法:** 以医用15 mm、28号毫针刺

表 1 各组大鼠拟痛行为学评分比较 (分,  $n = 10$ , mean  $\pm$  SD)

分组	针刺处理前	针刺处理后	针刺前后差值
空白组	6.00 $\pm$ 1.70	5.23 $\pm$ 1.62	0.70 $\pm$ 0.57
假手术组	6.67 $\pm$ 1.74	5.43 $\pm$ 1.31	1.23 $\pm$ 1.07
模型组	22.37 $\pm$ 2.07 <sup>bd</sup>	20.43 $\pm$ 2.09 <sup>bd</sup>	1.93 $\pm$ 1.15
轻手法组	22.83 $\pm$ 1.87 <sup>bd</sup>	11.77 $\pm$ 2.16 <sup>bdfhi</sup>	11.07 $\pm$ 3.04 <sup>bdfh</sup>
重手法组	21.73 $\pm$ 2.30 <sup>bd</sup>	14.73 $\pm$ 2.19 <sup>bdfi</sup>	7.00 $\pm$ 1.12 <sup>bdf</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 假手术组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 模型组; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs 重手法组; <sup>i</sup> $P < 0.01$  vs 同组针刺前后。

表 2 各组大鼠脊髓背角NMDAR2-B和SP阳性细胞数密度比较 (个/mm<sup>2</sup>,  $n = 5$ , mean  $\pm$  SD)

分组	NMDAR2-B	SP
空白组	53.07 $\pm$ 16.87	19.57 $\pm$ 5.22
假手术组	71.33 $\pm$ 12.83	30.93 $\pm$ 6.80
模型组	240.20 $\pm$ 25.59 <sup>bd</sup>	108.67 $\pm$ 11.37 <sup>bd</sup>
轻手法组	140.60 $\pm$ 21.30 <sup>bdfh</sup>	63.60 $\pm$ 13.74 <sup>bdfh</sup>
重手法组	179.53 $\pm$ 21.79 <sup>bdf</sup>	82.67 $\pm$ 12.13 <sup>bdf</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 假手术组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 模型组; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs 轻手法组; <sup>i</sup> $P < 0.01$  vs 重手法组。

■ 相关报道

现阶段研究发现参与内脏痛的感觉传入相关的神经递质有多种, 如5-羟色胺(5-HT)、缓激肽(BK)速激肽(NK)、P物质(SP)和N-甲基-D天冬氨酸(NMDA), 还包括降钙素基因相关肽(CGRP)、生长抑素、血管活性肠肽、组胺、嘌呤以及白介素-1 $\beta$ 等。在脊髓节段, NMDA受体和P物质(SP)是近年研究的热点。

入穴位7-9 mm, 留针30 min, 期间运针3次, 每次持续3 min. 每天针刺1次, 连续针刺7 d. 毫针轻手法组, 频率每分钟60次, 捻转角度180度. 毫针重手法组频率每分钟约120-150次, 捻转角度360度. 毫针针刺采用专人操作, 其频率及角度由手法测定仪(上海针灸经络研究所研制)监测稳定后再对大鼠进行操作。

1.2.5 实验步骤: 术前禁食不禁水12 h, 除空白组外均按要求进行手术植入气囊, 术后第3天C、D、E组进行胃扩张刺激, 同期所有组进行拟痛行为学评分; 第4天D、E组开始进行轻、重不同刺激强度毫针刺, 每日1次, 共7 d, 其他组与针刺组同期捆绑; 第11日C、D、E组再次进行胃扩张刺激, 同时各组再次进行拟痛行为学评分, 评分完立即对所有大鼠麻醉、灌注取材并测定各项指标。

1.2.6 观察指标: (1)拟痛行为学评分: 各组分别于植入气囊3、11 d采用单盲法进行拟痛行为学评分, 将大鼠放在自制鼠笼内, C、D、E组行胃扩张疼痛刺激3次(A、B组不刺激), 观察其拟痛行为学表现, 每间隔10 min观察行为学5 min. 评分标准参照Al-Chaer *et al*<sup>[8]</sup>的直肠AWR评分和预试实验结果制定, 对出现的行为依据其程度的不同分为0-3分4个等级. 各个行为根据与胃扩张的相关性大小赋以不同的权重, 总权重定为10, 舔足频率 $W_1 = 2$ , 抬颈频率 $W_2 = 3$ , 弓背 $W_3 = 5$ . 单个行为的评分为每次扩张后评分的均值, 综合评分 = 舔足评分  $\times$   $W_1$  + 抬颈评分  $\times$   $W_2$  + 弓背评分  $\times$   $W_3$ . (2)脊髓背角SP和NMDAR2-B: 免疫组化SABC法标记脊髓背角SP和NMDAR2-B阳性细胞. 用PBS代替一抗作阴性对照. NMDAR-2B受体阳性判定标准为细胞核中出现棕色或棕黄色颗粒状, SP阳性细胞判定标准为细胞质或细胞核中出现棕黄色细颗粒状. 采用MIAS医学图像分析系统(北京航空航天大学), 光镜下10 $\times$

40倍, 每张切片随机分析3个视野, 计算每只大鼠脊髓背角中的SP、NMDAR-2B受体的阳性细胞数密度(阳性细胞数/统计场面积)取平均值。

统计学处理 所有数据输入SPSS15.0 for Windows统计软件进行处理, 以mean  $\pm$  SD进行统计描述. 各组数据进行正态性检验, 符合正态分布者, 组内自身前后比较, 采用配对 $t$ 检验, 不符合则采用配对计量资料比较的符号秩合检验; 组间比较, 符合正态分布者, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 方差齐者用LSD和SNK法, 方差不齐者用Tamhane's T2或Dunnett's T3法; 不符合正态分布, 采用多个独立样本比较的秩和检验(K Independent Samples).

2 结果

2.1 不同毫针刺刺激强度对胃扩张大鼠拟痛行为学评分的影响 (1)针刺前, 与空白组相比, 假手术组拟痛行为学评分无明显变化, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); 与假手术组比较, 模型组、针刺组拟痛行为学评分明显增高, 差异有非常显著性意义( $P < 0.01$ ); (2)针刺后, 轻、重手法组拟痛行为学评分明显降低, 与针刺前比较有非常显著性意义( $P < 0.01$ ); 其前后差值与模型组比较有非常显著性意义( $P < 0.01$ ); 且轻手法组拟痛行为学评分下降更明显, 其差值与重手法组比较有非常显著性意义( $P < 0.01$ , 表1)。

2.2 不同毫针刺刺激强度对胃扩张疼痛大鼠脊髓背角NMDAR2-B和SP含量影响 胃扩张疼痛刺激后, 假手术组与空白组之间比较, 差异无显著意义( $P > 0.05$ ), 模型组、轻手法组、重手法组较假手术组脊髓背角内NMDAR2-B和SP阳性细胞数都有显著升高( $P < 0.01$ )(主要分布在脊髓背角的I层和II层), 提示胃扩张疼痛刺激可以升高脊髓背角内NMDAR2-B和SP阳性细胞数; 与

### ■创新盘点

本文比较了毫针不同刺激强度对胃扩张疼痛大鼠拟痛行为学、脊髓背角NMDA受体表达、P物质等含量的变化影响,探讨针刺缓解内脏痛是否与影响其感觉传入通路上相关神经递质有关,为针刺治疗胃痛临床和理论研究提供参考。

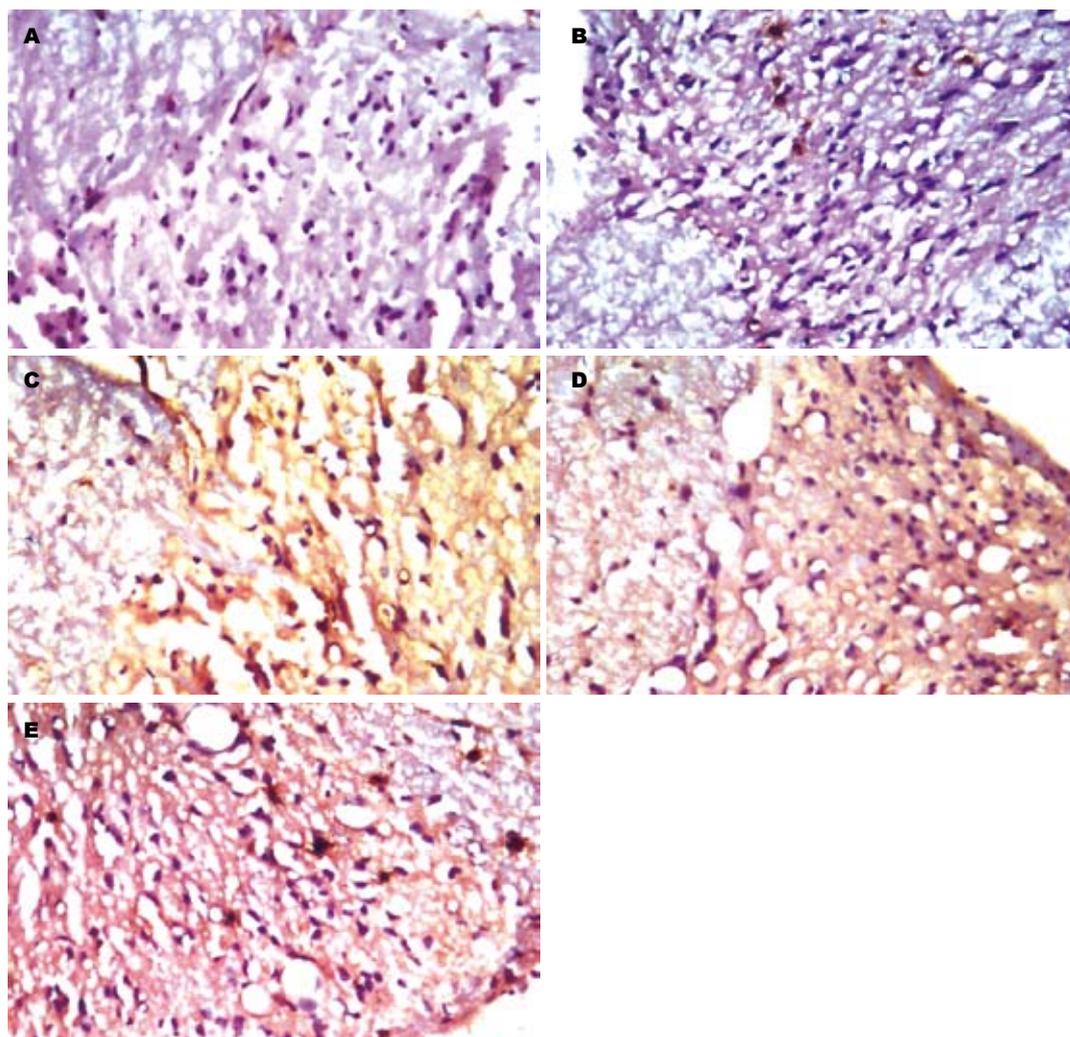


图1 各组大鼠脊髓背角NMDA-2B阳性表达( $\times 400$ )。A: 空白组; B: 假手术组; C: 模型组; D: 轻手法组; E: 重手法组。

模型组比较,轻手法组、重手法组NMDAR2-B和SP阳性细胞数明显下降( $P<0.01$ ),但仍较假手术组高( $P<0.01$ ),说明针刺能部分降低脊髓背角NMDAR2-B和P物质阳性表达;两针刺组之间相比,毫针不同刺激强度针刺效应不同,轻手法组降低NMDA受体和SP阳性细胞数效应强于重手法组( $P<0.01$ ,表2,图1-2)。

### 3 讨论

内脏痛(visceral pain)是临床上极为普遍的症状,给人类带来巨大痛苦,主要是由于各脏器及胸腹壁层的感觉神经末梢受到强烈机械、化学物质或炎症产物的刺激,此外也可因局部血液循环障碍、平滑肌痉挛及代谢产物不能及时排除而引起的疼痛感觉。内脏痛大都疼痛弥散,难以定位,伴有牵涉痛,运动和自主神经反射增强,皮肤肌肉组织痛觉增敏,持续的刺激可以由不痛进展为疼痛等特点<sup>[9-10]</sup>。

近年来的研究表明,针灸对内脏痛、内脏痛觉增敏具有良好的调节作用。李为民 *et al* 的动物行为学研究发现,急性内脏痛模型大鼠腹壁撤回反射(abdominal withdrawal reflex,AWR)评分以及腹直肌肌电(rectus abdominis electromyogram,EMG)在不同刺激等级水平均异常升高,而电针后AWR和EMG水平明显降低<sup>[11]</sup>。后来他们又采用电针方法对肠易激综合征大鼠的慢性内脏痛敏进行疗效观察,也取得良好的即刻和累加镇痛效应<sup>[12]</sup>。本实验中拟痛行为学评分是依据文献报道<sup>[8,11-12]</sup>及预实验情况制定,研究结果发现大鼠胃扩张可以升高其拟痛行为学评分。轻、重两种不同手法刺激均能降低胃扩张疼痛大鼠拟痛行为学评分。

现阶段研究发现参与内脏痛的感觉传入相关的神经递质有多种,如5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT)、缓激肽(bradykinin,BK)、速激肽(neurokinin,NK)、SP

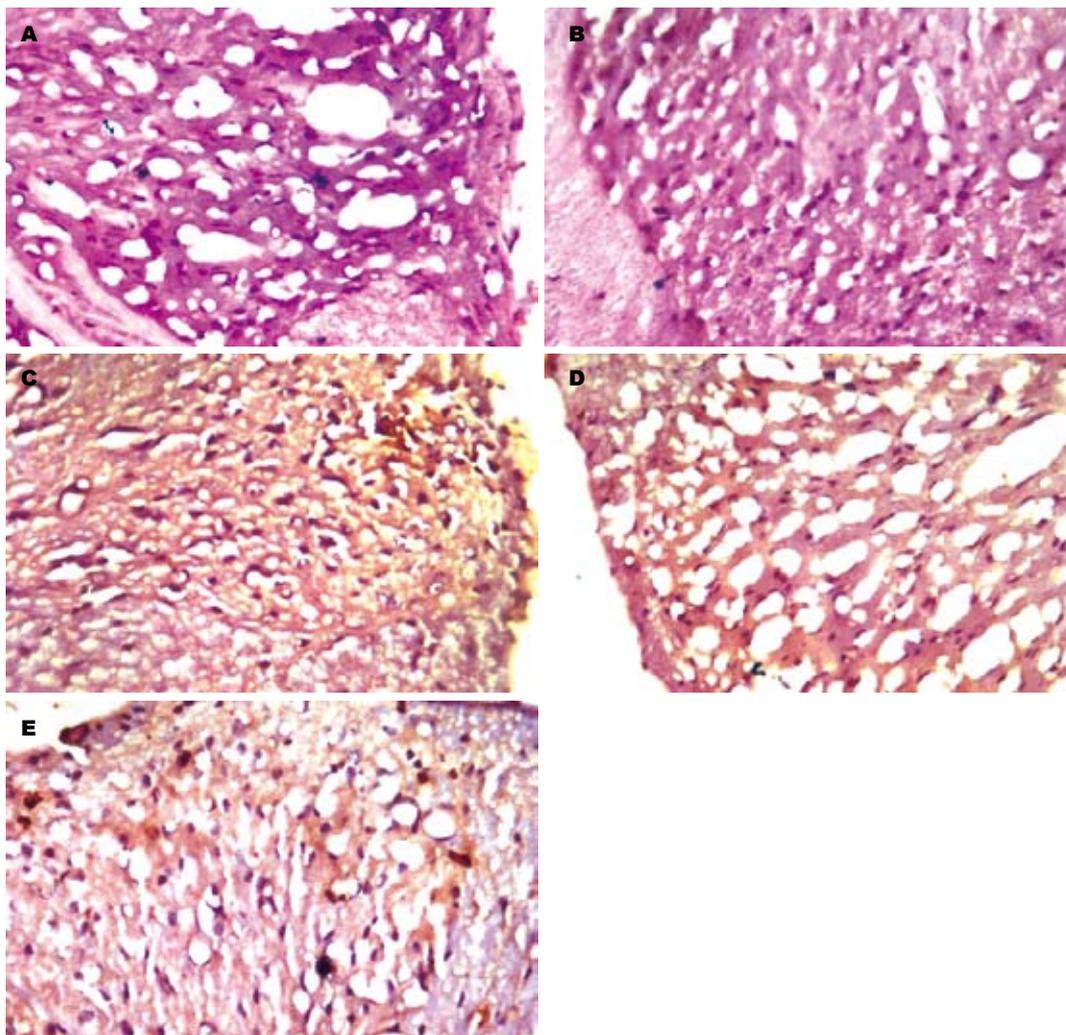


图 2 各组大鼠脊髓背角SP阳性表达(×400)。A: 空白组; B: 假手术组; C: 模型组; D: 轻手法组; E: 重手法组。

■ 名词解释

内脏痛(visceral pain): 临床上极为普遍的症状, 他给人类带来巨大痛苦, 主要是由于各脏器及胸腹壁层的感受神经末梢受到强烈机械、化学物质或炎症产物的刺激, 此外也可因局部血液循环障碍、平滑肌痉挛及代谢产物不能及时排除而引起的疼痛感觉。

和NMDA, 还包括降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、生长抑素、血管活性肠肽、组胺、嘌呤以及白介素-1 $\beta$ 等<sup>[13]</sup>。在脊髓节段, NMDA受体和SP是近年研究的热点。NMDA受体是一种配体门控离子型谷氨酸受体, 参与体内神经发育、突触可塑性、学习记忆以及痛觉信号的转导等生理病理过程。Ma *et al*<sup>[14]</sup>研究提示NR2B蛋白首先由背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)神经元合成, 再分布于伤害性初级传入纤维中枢端, 即脊髓背角 I 层的突触前膜。DRG神经元有外周突和中枢突。外周突末梢直接接受伤害性刺激, 而终止在脊髓背角浅层的中枢突末梢, 释放神经递质(如谷氨酸、天冬氨酸、SP和CGRP等), 激活脊髓背角特异性伤害性感受神经元, 传递痛觉冲动<sup>[15]</sup>。Petralia *et al*<sup>[16]</sup>发现大鼠DRG神经元有NR1的表达, 而Liu *et al*<sup>[17]</sup>进一步研究发现, 70%的DRG中枢突末梢中NR1和谷氨酸共存。这些研究提示, 脊髓

突触前膜的NMDA受体为自身受体, 可调节谷氨酸、天冬氨酸等神经递质的释放, 在痛觉信息的传递过程中起到重要作用。而Ma *et al*<sup>[14]</sup>研究发现, 70%的C纤维和A $\delta$ 纤维传入末梢表达NR2B, 表明突触前膜的NMDA受体以NR2B型为主。因此推测NR2B在脊髓水平痛觉信息传递中可能起到重要作用。NR2B在CNS痛觉信息传递和调制通路中呈选择性分布, 且在疼痛的产生和中枢性痛觉敏化形成中起到重要作用, 提示NR2B是一个潜在的镇痛治疗靶点<sup>[18]</sup>, 成为近年研究的热点。SP最先发现于马脑和肠的提取, 其在脊髓背根含量远高于腹根, 为一种感觉神经递质, 在痛觉调控中起重要作用。普遍认为SP是参与痛觉的一级传入神经纤维末梢的递质, 在周围神经中SP主要由背根神经节细胞合成, 然后沿着背根传入纤维转运至位于背角最背部第 I 和第 II 层的末梢, 而由脑的下行纤维所释放的SP可能参与对伤害性感受进行调制<sup>[19]</sup>。肠

#### ■同行评价

本研究设计合理,结果可靠,结论可信,对针刺镇痛机制的研究有一定的参考价值。

胃黏膜及皮下肌层肠神经中能够分泌大量SP,当胃肠受到伤害性刺激时,冲动可由胃肠道经初级伤害性神经纤维传至脊髓,SP一直参与此伤害性刺激传递。

较多的研究显示,针刺可引起体内活性物质的改变,雷亚宁 *et al*通过电针内脏牵拉痛大鼠双侧足三里穴,在外周激活了肌间神经丛内含脑啡肽(enkephalin, ENK)神经元,促进ENK的释放,抑制ACh和SP的释放,因而产生镇痛作用<sup>[20]</sup>。Xiao *et al*研究发现电针能显著提高机械性结直肠刺激后的痛阈值,在慢性内脏超敏性(chronic visceral hypersensitivity, CVH)大鼠结肠内降低了5-HT的浓度,因而他们认为电针可能通过外周5-羟色胺能途径而缓解痛觉增敏和应激引起的结肠功能紊乱<sup>[21]</sup>。有的学者研究发现针刺足三里穴能明显下调内脏痛大鼠骶髓后连合核(DCN)和延髓内脏带中的胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)的免疫阳性表达,他们认为针刺可以通过调控DCN和孤束核及迷走神经背侧运动核的功能,抑制星形胶质细胞的活化,从而减轻内脏的疼痛<sup>[22-23]</sup>。

本实验研究发现胃扩张疼痛大鼠脊髓背角中NMDAR-2B阳性细胞数较假手术组显著升高,与既往报道NMDAR-2B参与伤害性刺激传递相一致<sup>[15]</sup>。40 mmHg胃扩张是一伤害性刺激,使胃部产生疼痛,DRG神经元的外周突末梢直接接受这种伤害性刺激,终止在脊髓背角浅层的中枢突末梢,释放神经递质(如谷氨酸、天冬氨酸、SP和CGRP等),激活脊髓背角特异性伤害性感受神经元,传递痛觉冲动。这些受体中NMDAR-2B比重较大<sup>[14]</sup>,因此胃扩张疼痛大鼠脊髓背角中NMDAR-2B阳性细胞数明显升高。轻、重两种不同手法刺激均能降低胃扩张疼痛大鼠NMDAR-2B阳性细胞数,但均不能降低到假手术组水平( $P<0.01$ ),提示针刺能够部分降低胃扩张疼痛刺激引起的大鼠NMDAR-2B阳性细胞数升高。其作用机制为针刺传入信号在脊髓背角抑制NMDAR-2B表达,抑制伤害性刺激由DRG神经元的外周突末梢向脊髓的中枢突传递,从而发挥对大鼠胃扩张疼痛的调制作用。

本实验研究发现胃扩张疼痛刺激后,假手术组与空白组之间脊髓背角SP表达比较,差异无显著意义( $P>0.05$ ),模型组、轻手法组、重手法组较假手术组脊髓背角内脊髓背角SP阳性细胞数都有显著升高( $P<0.01$ ),提示胃扩张疼痛刺激可以升高脊髓背角内SP含量。40 mmHg胃扩

张引起的伤害性冲动可由胃肠道经初级伤害性神经纤维传至脊髓,刺激了脊髓浅层固有的SP神经元合成,也接收到来自脑的下行纤维所释放的SP脑的下行纤维所释放的SP调节<sup>[19,24]</sup>,因此使得胃扩张疼痛刺激后脊髓背角内SP含量升高。与模型组比较,轻手法组、重手法组SP阳性细胞数明显下降( $P<0.01$ ),说明针刺可以降低胃扩张疼痛刺激引起脊髓背角内SP含量升高。其机制可能为针刺抑制胃扩张的伤害性刺激冲动的产生和向脊髓的传递,同时调节高位中枢释放镇痛物质,从而降低脊髓背角的SP含量,发挥镇痛作用。但未降低至假手术组水平,说明针刺只能部分降低脊髓背角SP含量,这与以往报道的针刺镇痛作用不完全相吻合。

总之,两种不同强度手法刺激针刺胃扩张疼痛大鼠足三里穴,均能降低胃扩张疼痛大鼠疼痛行为学积分、脊髓背角中NMDAR-2B和SP阳性细胞数的升高,抑制其行为学反应和低位中枢传递疼痛信息物质,发挥镇痛作用。其作用机制可能与选足三里穴针刺相关,大量临床报道<sup>[25-27]</sup>,足三里对胃痛等腹痛具有较好的镇痛作用。实验研究报道<sup>[28]</sup>,足三里穴处的躯体传入神经节段部分与胃的节段重叠,电针足三里穴能翻转或拮抗胃扩张引起的背角神经元放电的改变。因此毫针针刺足三里通过调节胃肠的运动功能,减少伤害性刺激的产生,同时抑制疼痛信息物质的合成和释放,减少疼痛物质向中枢传递,刺激脊髓高位中枢的镇痛物质,而发挥对胃扩张疼痛大鼠镇痛作用。

本研究还发现两种不同强度刺激手法针刺胃扩张疼痛大鼠足三里穴效应不同,在降低拟疼痛行为学积分、脊髓背角中NMDAR-2B和P物质阳性细胞数的升高方面有一定差异,轻手法刺激强度要优于重刺激手法。其机制分析如下:本实验中的轻手法刺激强度(频率每分钟60次,捻转角度180度),在新版《针灸学》<sup>[29]</sup>中,此强度实为中等强度刺激(频率每分钟60-90次,捻转角度90-180度),李万瑶 *et al*<sup>[30]</sup>报道此强度的手法刺激效果可以很好的舒张血管,提高痹证患者肢体血供,起到镇痛和恢复肢体功能的作用。本研究认为此强度刺激之所以能较好的抑制胃扩张疼痛是因为此强度针刺在大鼠受到胃扩张伤害性刺激时,抑制胃扩张伤害性刺激的产生和传递,能更好地抑制SP等疼痛相关信息物质的释放,抑制NMDAR-2B的疼痛递质受体的表达,刺激中枢释放更多的镇痛物质,从而发挥

更好的镇痛作用。

#### 4 参考文献

- 1 易受乡, 林亚平, 严洁, 常小荣, 杨显. 电针对大鼠胃运动、P物质和胃动素的影响. 世界华人消化杂志 2001; 9: 284-287
- 2 易受乡, 阳仁达, 严洁, 常小荣, 林亚平. 针刺对胃黏膜损伤家兔表皮生长因子、生长抑素及生长抑素受体基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1721-1723
- 3 严洁, 黎喜平, 黄艾, 易受乡, 常小荣, 林亚平, 胡蓉. 电针足阳明经穴对大鼠胃黏膜损伤修复机制的研究. 中国中医药信息杂志 2006; 13: 20-22
- 4 Rouzade ML, Fioramonti J, Bueno L. A model for evaluation of gastric sensitivity in awake rats. *Neurogastroenterol Motil* 1998; 10: 157-163
- 5 Traub RJ, Sengupta JN, Gebhart GF. Differential c-fos expression in the nucleus of the solitary tract and spinal cord following noxious gastric distention in the rat. *Neuroscience* 1996; 74: 873-884
- 6 Ozaki N, Gebhart GF. Characterization of mechanosensitive splanchnic nerve afferent fibers innervating the rat stomach. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1449-G1459
- 7 李忠仁. 实验针灸学. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 327
- 8 Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development. *Gastroenterology* 2000; 119: 1276-1285
- 9 Cervero F, Laird JM. Visceral pain. *Lancet* 1999; 353: 2145-2148
- 10 Jänig W, Häbler HJ. [Physiology and pathophysiology of visceral pain] *Schmerz* 2002; 16: 429-446
- 11 李为民, 崔可密, 吴根诚. 电针对急性内脏痛大鼠腹部撤回反射和腹直肌肌电的影响. 中国临床康复 2004; 8: 1899-1901
- 12 李为民, 崔可密, 吴根诚. 电针治疗肠易激综合征大鼠作用观察. 上海针灸杂志 2006; 25: 43-47
- 13 温建忠, 郭政. 内脏痛及痛过敏生物学研究新进展. 临床医药实践杂志 2004; 13: 243-246
- 14 Ma QP, Hargreaves RJ. Localization of N-methyl-D-aspartate NR2B subunits on primary sensory neurons that give rise to small-caliber sciatic nerve fibers in rats. *Neuroscience* 2000; 101: 699-707
- 15 Zhuo M. Glutamate receptors and persistent pain: targeting forebrain NR2B subunits. *Drug Discov Today* 2002; 7: 259-267
- 16 Petralia RS, Wang YX, Wenthold RJ. The NMDA receptor subunits NR2A and NR2B show histological and ultrastructural localization patterns similar to those of NR1. *J Neurosci* 1994; 14: 6102-6120
- 17 Liu H, Wang H, Sheng M, Jan LY, Jan YN, Basbaum AI. Evidence for presynaptic N-methyl-D-aspartate autoreceptors in the spinal cord dorsal horn. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 8383-8387
- 18 王公明, 田玉科, 戴体俊. NMDA受体2B亚基: 一个潜在的镇痛治疗靶点. 国际麻醉学与复苏杂志 2006; 27: 309-312
- 19 边景檀, 沈上, 明晓云, 石玉顺, 韩济生. 中枢P物质参与电针镇痛的证据. 神经科学 1994; 1: 9-15
- 20 雷亚宁, 丁友梅, 张军明, 茹立强, 任艳华, 刘芬. 电针刺足三里穴对内脏牵拉痛大鼠的镇痛作用. 中华麻醉学杂志 2005; 25: 688-690
- 21 Tian XY, Bian ZX, Hu XG, Zhang XJ, Liu L, Zhang H. Electro-acupuncture attenuates stress-induced defecation in rats with chronic visceral hypersensitivity via serotonergic pathway. *Brain Res* 2006; 1088: 101-108
- 22 王景杰, 秦明, 邱建勇, 段丽, 曹荣, 饶志仁. 电针刺激足三里穴对内脏痛大鼠行为学及骶髓后连合核中GFAP、OX42表达的影响. 神经解剖学杂志 2006; 22: 371-341
- 23 秦明, 黄裕新, 王景杰, 段丽, 曹荣, 饶志仁. 电针“足三里”穴对内脏痛大鼠延髓内c-fos和GFAP表达的影响. 针刺研究 2006; 31: 136-139
- 24 Gibson SJ, Bloom SR, Polak JM. A novel substance P pathway linking the dorsal and ventral horn in the upper lumbar segments of the rat spinal cord. *Brain Res* 1984; 301: 243-251
- 25 陈竞. 针刺内关、足三里治疗腹痛48例. 中国针灸 2005; 25: 563-563
- 26 曾华, 何克茜, 黄玉英. 654-2足三里注射治疗功能性复发性腹痛临床观察. 医学文选 2006; 25: 250-250
- 27 孟宪臻, 张建君. 足三里温针灸预防消炎痛胃肠道损伤的观察与护理. 中国实用护理杂志 2004; 20: 51-52
- 28 张建梁, 晋志高, 逯波, 陈淑萍, 蔡虹, 景向红. 脊髓背角神经元对胃扩张及电针“足三里”穴的反应. 针刺研究 2001; 26: 268-273
- 29 石学敏. 针灸学. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 136
- 30 李万瑶, 朱莉莉. 针刺强度对痹证患者肢体血流图的影响. 陕西中医 1986; 7: 419

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 世界华人消化杂志被收录情况

本刊讯 世界华人消化杂志被国际权威检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录. 国内为中国科技论文统计与分析(科技部列为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》2008年版内科学类的核心期刊、中国学术期刊文摘、中国生物医学文献光盘数据库、中文科技资料目录医药卫生、解放军医学图书馆CMCC系统、中国医学文摘外科学分册(英文版)、中国医学文摘内科学分册(英文版)收录.(常务副总编辑: 张海宁 2009-05-08)