

医学科研资料

针刺麻醉专辑

1

一九七九

上海第一医学院

R-11

1

(1979) 1

医 学 科 研 资 料

针刺麻醉专辑

(内部资料)

一九七九 1 (总 27)

1979 年 5 月 出 版

编 辑 者

上海第一医学院针麻研究室

上海第一医学院科技情报研究室

印 刷 者

上海市印刷十二厂

0.50 元

目 录

内啡肽和针刺镇痛·····	(1)
针刺镇痛时家兔脑内推挽灌流液中内啡肽含量的变化·····	(12)
家兔中央灰质内微量注射纳洛酮和对氯苯丙胺对针刺镇痛作用的影响·····	(20)
吗啡耐受对家兔针刺镇痛的影响·····	(26)
纳洛酮对不同强度电针所致镇痛效应的作用·····	(29)
纳洛酮对针刺抑制家兔大脑皮层牙髓诱发电位的影响·····	(32)
吗啡拮抗剂对针刺抑制血管运动反应的影响·····	(38)
人脑中吗啡样物质的分离和检定·····	(44)
人脑脊液中的内啡肽及其与针刺镇痛的关系·····	(51)
尾核在针刺镇痛中的作用·····	(55)
尾核中环磷酸腺苷在针刺镇痛中的作用·····	(64)
纳洛酮对尾核镇痛作用的影响·····	(73)
大白鼠尾壳复合体头部的传入与传出性联系·····	(75)
人脑尾核在针刺镇痛中作用的探讨·····	(90)
猫隔区在电针过程中对皮肤电反射作用的初步探讨·····	(99)
家兔损毁隔区后电针对防御性运动反射抑制作用的变化·····	(104)
电针与伤害性刺激对家兔隔区单位活动影响的初步观察·····	(108)
针刺镇痛效果与交感机能活动的关系·····	(112)
电刺激参数与针刺镇痛效果关系的观察·····	(124)
中医辨证与甲状腺切除术针麻效果的关系·····	(130)
针刺麻醉下全喉截除术·····	(133)
针麻下广泛性子官切除及盆腔淋巴结清除术 140 例临床观察·····	(136)
经络腧穴与周围神经的关系·····	(140)
迷走神经内脏传入纤维与三叉神经躯体感觉核(脊束核)间的联系·····	(157)
针刺穴位对正常人痛觉影响的初步观察·····	(162)
针感和针效的关系及其脊髓的传入通路·····	(170)
771 例电针刺引产分析·····	(174)
头针治疗遗传性共济失调和震颤麻痹的初步观察·····	(181)

内啡肽和针刺镇痛

上海第一医学院针麻原理研究协作组

张安中 潘小平 许绍芬 程介士 莫浣英 综述

内啡肽 (endorphins) 指一系列体内具有吗啡样活性的肽, 其中有的已证明为神经递质或神经调节物, 有的则可能是神经激素, 它们具有广泛的生理功能, 包括抗痛的功能, 目前认为内啡肽是中枢抗痛系统的重要组成部分, 并参与针刺镇痛, 这方面的工作对阐明针刺镇痛原理起了很大的推动作用。

一、关于中枢抗痛系统

早在 1962 年, 邹冈和张昌绍^[1]报导将微量吗啡注射在脑内第三脑室及导水管周围的灰质能明显镇痛, 所需剂量仅为静脉注射有效量的 $1/500 \sim 1/1,000$, 而同时测试的一些其它脑区则无此作用; 以后有人发现电刺激脑室及导水管旁灰质可产生强大的镇痛作用^[17, 42], 最近又发现这个区域正是具有抗痛功能的内啡肽及其作用受体——阿片受体高度密集之处^[44], 这样就显示了一个以脑室和导水管周围灰质为中心的中枢抗痛系统, “痛”和“抗痛”两个体系似乎并存于中枢的某些结构中, 它们共同调节着有关痛觉的功能。

二、内啡肽参与中枢抗痛系统

1. 内啡肽及其受体在中枢的选择性分布和痛觉的通路一致^[38], 也和吗啡脑内微量注射^[47]、以及脑内电刺激产生镇痛作用^[34]的有效部位一致, 提示它们和痛觉的调节有关。

2. 脑内电刺激所产生的镇痛, 不仅具有作用强大、选择性高的特点, 更引人注意的是它和吗啡镇痛之间存在交叉耐受^[35], 而且可被吗啡拮抗剂——纳洛酮所部分对抗^[18], 说明它和吗啡具有共同的镇痛机制, 也就是说, 内啡肽和阿片受体参与这种镇痛。

3. 内啡肽具有镇痛效应^[6, 13, 21, 23, 24, 28, 31, 39a], 包括行为的镇痛以及对痛敏细胞伤害感受性放电的抑制。如 β -内啡肽^[31] (β -endorphin, 存在于垂体及脑内的 31 肽) 镇痛作用比吗啡强几十倍; 脑啡肽^[29] (enkephalins, 主要存在于脑内的 5 肽, 已证明是神经递质或神经调节物质) 的镇痛作用弱而短暂, 可能与迅速被酶解有关, 中国科学院上海生物化学研究所于 1976 年 5 月固相合成了甲硫氨酸脑啡肽和亮氨酸脑啡肽, 我们用家兔钾离子透入法及小鼠热板法证明它们的镇痛效价为吗啡的 $1/24$ (兔) $\sim 1/120$ (小鼠), 如直接注射到家兔的中央灰质, 则镇痛效价可提高 10 倍左右^[13], Pert^[39b]、Belluzzi^[21]等分别合成了脑啡肽的抗酶解衍化物, 镇

痛效价大大提高，有的甚至静脉注射也有效；我们于1976年从人脑中提取到一个组分，分子筛G-10柱层析上的洗脱部位与脑啡肽不同，小鼠输精管生物检定证明它有较强的吗啡样活性，家兔侧脑室注射有镇痛作用^[6](图1)；止痛素^[39](anodynin, 在血液中发现的短肽，

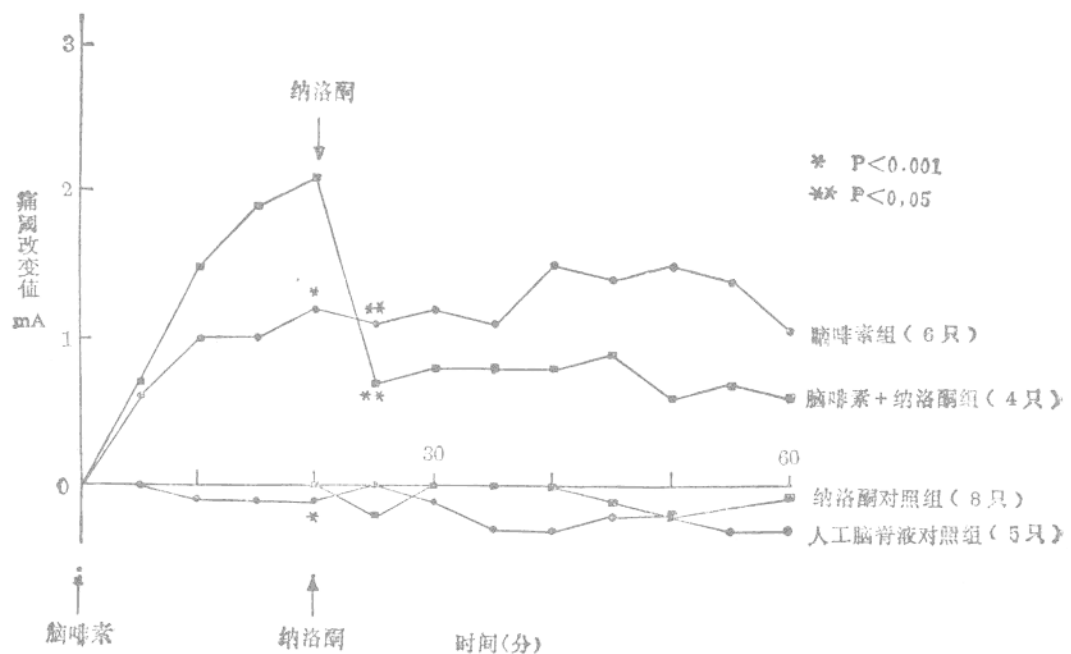


图1 纳洛酮对脑啡素镇痛作用的翻转

- (1) 人工脑脊液对照组(共5只兔)：侧脑室注入人工脑脊液后，1小时内痛阈皆保持平稳。
- (2) 纳洛酮对照组(共8只兔)：静脉注射纳洛酮(0.8mg/只)后40分钟内痛阈基本保持平稳。
- (3) “脑啡素”组(共6只兔)：侧脑室注入“脑啡素”后，动物保持安静，未见有行为异常，痛阈于5分钟后开始上升，20分钟时达高峰，此时与人工脑脊液组相比， $P<0.001$ ，镇痛作用维持约1小时。一次镇痛有效剂量相当于150~300g脑的提取物，作用强度和40ug吗啡相似。
- (4) “脑啡素”加纳洛酮组(共4只兔)：侧脑室注入“脑啡素”，剂量、容积、pH等条件同上，在给药后20分钟出现镇痛作用高峰时，静脉注射纳洛酮(0.8mg/只)，5分钟后立即出现翻转现象，痛阈平均下降66%，与单用“脑啡素”组同时程的痛阈改变值比较， $P<0.05$ 。

来自垂体)也具有强而持久的镇痛作用。在内啡肽之前,还没有提取到具有明确镇痛作用的内源性物质，因此这一发现受到了广泛的注意，特别是内啡肽的镇痛作用可被纳洛酮所取消，说明它们特异地作用于阿片受体，是具有吗啡样镇痛效应的内源性物质。

4. 慢痛病人脑脊液中的内啡肽含量低于正常人或无疼痛情况的病人^[19,20,46]，当电刺激穴位^[46]或脑区^[19]发挥镇痛效应时，脑脊液中的内啡肽含量也随着升高。提示某些疼痛性疾病的病因可能与内啡肽系统功能低下有关，而一些增强内啡肽功能的措施(如电刺激穴位)可缓解疼痛。

5. 纳洛酮在一定条件下可降低痛阈或加重痛刺激所引起的情绪反应^[4,22,25-26,30]，提示内啡肽系统在正常生理情况下也维持一定水平(虽则是低水平)的抗痛功能。在某些因素的激活下，内啡肽系统的功能会得到加强，研究各种影响内啡肽系统功能的因素，将对临床一些疼痛性疾病的处理起到别开生面的作用。

以上实验结果都说明内啡肽是中枢抗痛系统的一个重要组成部分,这自然使人联想到针刺镇痛是否与发动这一系统有关?

三、内啡肽参与针刺镇痛

国内外在这方面做了不少工作,实验结果大都支持这一设想,可归纳为两个方面:

1. 纳洛酮对抗针刺镇痛——人体试验观察到一致的阳性结果;在猴^[4]、兔^[10]、小鼠^[40]和大鼠^[16]身上的观察结果与人体结果一致,说明针刺镇痛部分通过阿片受体而实现。纳洛酮对针效的对抗作用,除上述的行为指标外,我们还观察到纳洛酮对针刺抑制家兔大脑皮层牙髓诱发电位有明显的对抗作用^[11],用纳洛酮时的电针抑制值和用纳洛酮前及用药后1小时相比, $P < 0.01$ (图2),纳洛酮本身则对皮层牙髓诱发电位无明显影响(图3)。

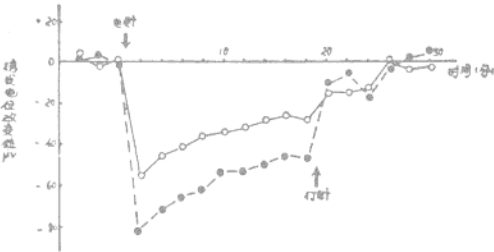


图2 纳洛酮对电针抑制家兔大脑皮层牙髓诱发电位的对抗作用 (15例电针抑制均值)
——○——用纳洛酮时
---●---用纳洛酮前及用药一小时后



图3 纳洛酮对家兔皮层牙髓诱发电位的作用 (6例均值)
纳洛酮: 0.4mg/kg·iV
牙髓刺激: 单个方波电脉冲, 波宽0.5毫秒, 空载电压30~60V

我们在家兔尾核头部进行推挽灌流,用饱和分析法测定灌流液中的环磷酸腺苷(cAMP),看到在针刺镇痛时,cAMP含量下降,统计显著(图4),用纳洛酮后,电针对痛阈以及对cAMP含量的作用同时受到对抗^[9](图5)。由于cAMP是内啡肽及多巴胺的第二信使,前者抑制腺苷酸环化酶的活性,后者则增强之,可以设想电针时释放内啡肽,后者对多巴胺系统起突触前抑制的作用,抑制多巴胺释放^[41],这两种使cAMP减少的因素都与内啡肽有关,因此可被纳洛酮所翻转。

除了对针刺抑制体躯痛的观察外,我们又在清醒家兔实验中,以牵拉盆腔脏器引起的血管容积脉搏波变化为指标,观察了吗啡拮抗剂丙烯吗啡对针刺抑制内脏牵拉反应的作用^[12],看到丙烯吗啡1mg/kg对牵拉反应具有吗啡样的抑制作用(图6、图7),但它又能阻断电针对牵拉反应的抑制作用,取电针过程中,注射丙烯吗啡前、后牵拉反应变化作对比,t检验 $P < 0.025$,生理盐水则无此作用(图8)。

由此可见,不论是针刺对体躯痛、对内脏牵拉反应的抑制作用,吗啡拮抗剂都可部分对抗,对抗作用的指标有行为的、电生理的、以及生化的反应,说明可靠性较大。为了重点观察某些核团中的内啡肽系统在针刺镇痛中的作用,我们更进一步将微量的纳洛酮2 μ g注入家兔的中央灰质,发现如此微量的纳洛酮即能部分对抗针刺镇痛和静脉注射吗啡引起的镇痛,统计显著,而在同一部位注射同体积的生理盐水,痛阈不但下降,反而升高,统计也显著^[14](图

9、图 10)，说明中央灰质的阿片受体在针刺镇痛中起重要作用，生理盐水微量注射引起如此显著的痛阈升高，过去没有见到过，鉴于中脑中央灰质（特别是尾端腹外侧，也就是我们注射的部位）是脑内电刺激镇痛最有效的脑区^[42, 43]，在该处注射盐水可能起了轻微刺激的作用，因此引起类似脑内电刺激镇痛的效应。

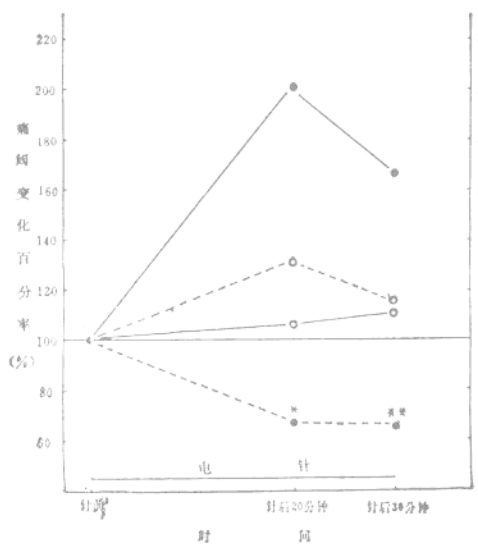


图4 电针前后家兔痛阈和尾核灌流液中 cAMP 含量的变化

●——● 电针组(痛阈) ●——● 电针组(cAMP)
○——○ 对照组(痛阈) ○——○ 对照组(cAMP)
* $P<0.01$ ** $P<0.05$

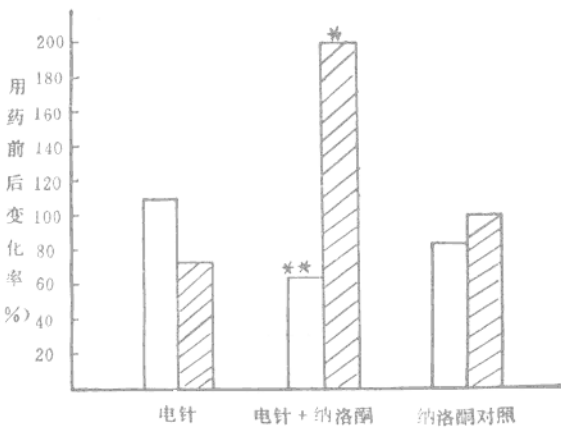


图5 纳洛酮对电针针效和 cAMP 降低作用的翻转

□ 痛阈 * $P<0.01$
■ cAMP ** $P<0.05$

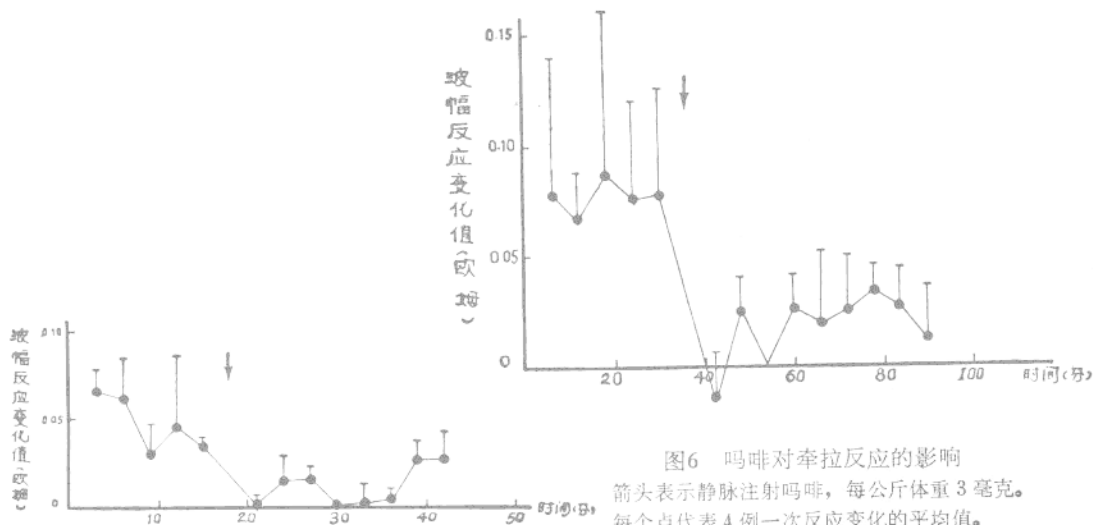


图6 吗啡对牵拉反应的影响
箭头表示静脉注射吗啡，每公斤体重 3 毫克。
每个点代表 4 例一次反应变化的平均值。

图7 丙烯吗啡对牵拉反应的影响

箭头表示静脉注射丙烯吗啡，每公斤体重 1 毫克。
每个点代表 5 例一次反应变化的平均值。

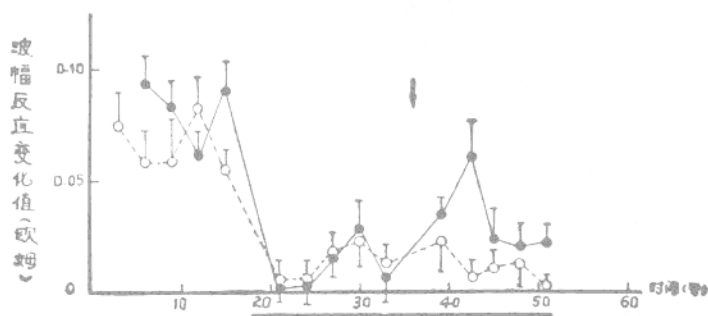


图8 丙烯吗啡阻断电针抑制效应的时间过程

——线代表丙烯吗啡组, 每个点为 12 例
一次反应变化的平均值。
-----线代表盐水对照组, 每个点为 6
例一次反应变化的平均值。
箭头表示静脉注射丙烯吗啡或生理盐水。
粗黑线表示电针穴位。

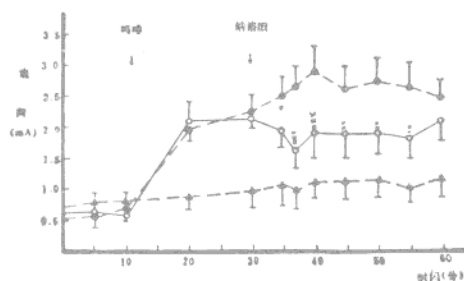


图9 中央灰质注射纳洛酮
($2\mu\text{g}/2\mu\text{l}$)及生理盐水($2\mu\text{l}$)
对吗啡($5\text{mg}/\text{kg}$ i.v.)镇痛的影响

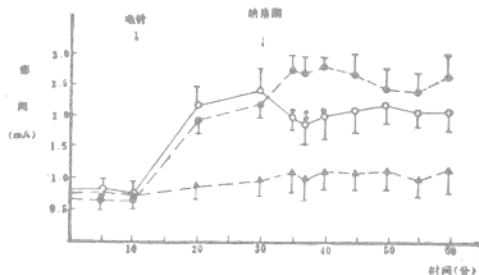


图10 中央灰质注射纳洛酮
($2\mu\text{g}/2\mu\text{l}$)及生理盐水($2\mu\text{l}$)
对电针镇痛效应的影响

关于纳洛酮对抗针效的特异性, 我们观察到纳洛酮 $0.4\text{mg}/\text{kg}$ i.v. 可明显对抗“弱电针”(以不引起动物挣扎为度, 刺激电流 $7.5\sim 8.0\text{mA}$)的镇痛效应, 却不对抗“强电针”(引起动物挣扎、激动不安, 刺激电流 $12.5\sim 15\text{mA}$)的针效, 后者的镇痛效应并不比“弱电针”组强, 但对纳洛酮的反应和“弱电针”组完全不同^[10](图 11)(表 1)说明不同强度电针的镇痛原理可能不同, 这一结果部分解释了过去各家实验室在针麻原理研究所得的矛盾结果; 同时, 既然人的针刺镇痛对纳洛酮的对抗作用如此敏感, 为了使动物电针镇痛模型尽量接近临床, 可用纳洛酮作为检验模型的工具。

表 1 两种强度电针的镇痛效应以及纳洛酮的翻转作用

	动物数	有针效动物及% *	有针效动物痛阈平均提高 %	纳洛酮翻转 %
弱电针组	37	26 (70%)	187%	+41%
强电针组	12	8 (66%)	200%	-6%

*以电针 20 分钟后痛阈提高 1 倍以上者作为“有针效”

“强电针”镇痛很类似文献中所报导的“应激镇痛”, Mayer^[36], Goldstein^[27]等报告纳洛酮

能对抗针刺镇痛，却不对抗催眠镇痛和应激镇痛，认为原理各有不同；也有人报告纳洛酮能部分对抗应激镇痛^[44]，但所需剂量高达 10mg/kg（而我们用来对抗“弱电针”镇痛的剂量仅 0.4mg/kg）。关于应激镇痛和针刺镇痛的比较，我们正在作进一步的观察。

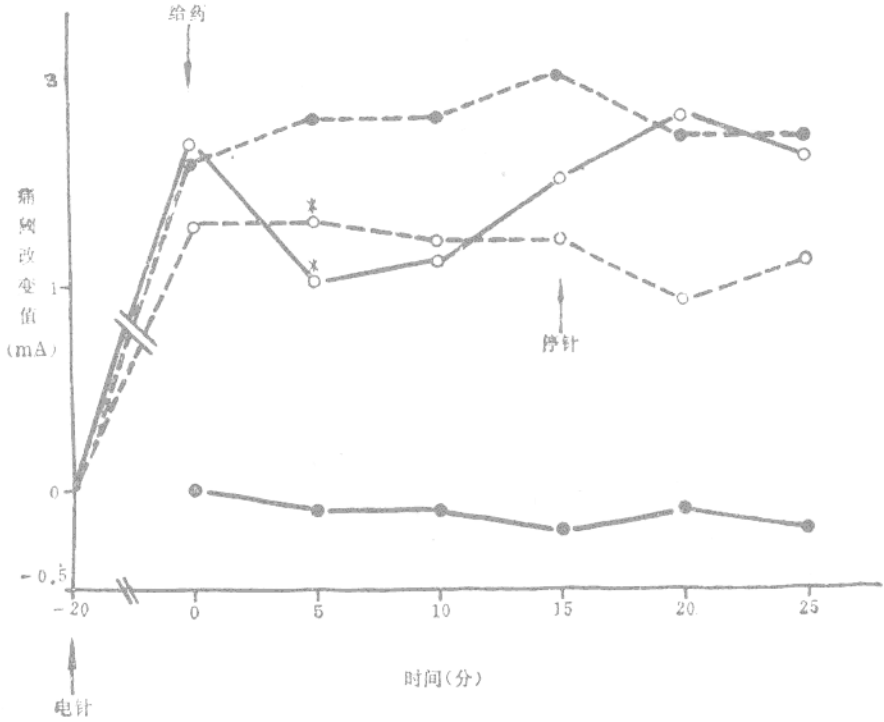


图11 纳洛酮对两种强度电针所致镇痛效应的作用
 ●—● “强电针”+纳洛酮组N=8
 ○—○ “弱电针”+纳洛酮组N=14
 ○---○ “弱电针”+盐水组N=12
 ●---● 纳洛酮对照组N=8
 * $P < 0.005$ (将两个痛阈下降值进行比较)

针刺镇痛可被纳洛酮所对抗，那么它是否与吗啡存在交叉耐受？我们给家兔连续使用吗啡，使产生耐受性，发现其针刺镇痛效应并不比对照兔差(图 12、图 13)，而且这种针效照样可以被吗啡拮抗剂所部分对抗^[10] (图 14)；而动物连续电针，使对电针镇痛发生耐受后，吗啡即不再能引起镇痛^[2]，这种单向的交叉耐受，在内啡肽和吗啡之间也有类似报导，Totella 等^[47]最近报告，吗啡耐受大鼠对 D-Ala²-脑啡肽酰胺(是脑啡肽的一种抗酶解的衍化物)的镇痛作用不表现交叉耐受性；但反过来，如大鼠先对 D-Ala²-脑啡肽酰胺形成耐受性，对吗啡镇痛就表现交叉耐受了。对上述现象可用阿片受体存在多种亚型^[32]来解释，参与针刺镇痛的内啡肽，可能作用于几种受体亚型，其中包括吗啡所作用的亚型，因此形成单向的交叉耐受，纳洛酮对这几种亚型都有阻断作用，对两者的镇痛作用都能对抗。此外，吗啡耐受动物脑内 5-羟色胺(5-HT)转换率显著增加^[43]，在维持针效中也起较大作用。用小剂量对氯苯丙胺(PCA)抑制脑内 5-HT 生物合成后，在不明显影响正常兔针效的情况下，可取消吗啡耐受兔的针效(图 15)^[10]，说明吗啡耐受动物的针刺镇痛效应，部分由 5-HT 来维持。吗啡耐受动物对针

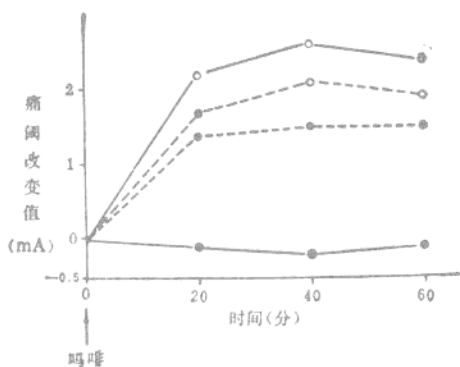


图12 吗啡(5mg/kg)对吗啡耐受免及盐水对照免的镇痛效应

○—○ 吗啡组(耐受前)
○—○ 对照组(“耐受”前)
●—● 对照组(“耐受”后)
●—● 吗啡组(耐受后)

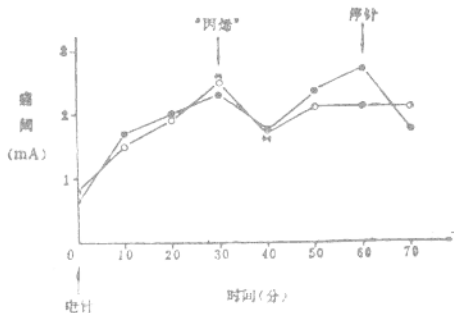


图14 丙烯左吗喃(3mg/kg)对吗啡耐受免电针镇痛效应的翻转作用

* $P < 0.005$

●—● 对照组
○—○ 耐受组

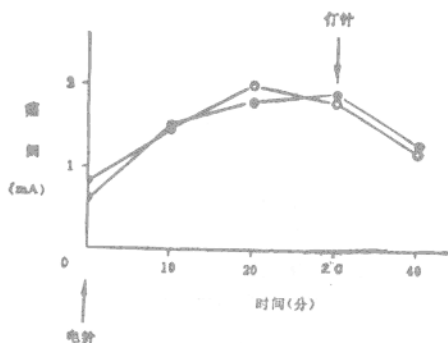


图13 吗啡耐受免的针刺镇痛效应

●—● 吗啡耐受组
○—○ 盐水对照组

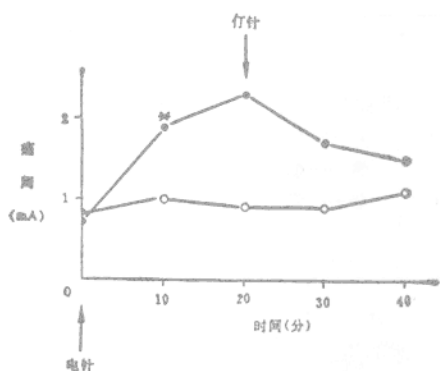


图15 对氯苯丙胺(PCA)对正常兔及吗啡耐受兔针刺镇痛效应的影响

●—● 对照组
○—○ 吗啡耐受组
* $P = 0.005$

刺镇痛不表现交叉耐受,提示临床上对美沙酮、度冷丁等镇痛药产生耐受性的慢痛病人,仍可采用针刺来缓解疼痛。

2. 针刺镇痛时内啡肽释放增加——从人脑脊液^[7,46]、动物脑区^[8,14]、垂体^[15]、以及脑内某些核团灌流液^[8]中的观察都得到一致的结果。我们和华山医院神经科共同观察病人针刺前后脑脊液中内啡肽含量的改变^[7],对象是8例需进行脑室引流手术的脑瘤患者,在普鲁卡因局麻下进行颅骨钻孔,作侧脑室后角穿刺,插入塑料引流管。经引流管收集脑脊液6~8ml,然后电针双侧合谷及内关,30分钟后停针,再收集脑脊液6~8ml,脑脊液经超过滤、G-10分子筛柱层析等处理后,取盐峰前及盐峰后的两个组分(依次称为组分I及II)用受体结合分析法测定其中内啡肽含量,发现在手术后立即收集的脑脊液,其中内啡肽含量波动较大,针刺前后无明显差别;但在术后第二天,病人处于安静状态下再进行同样观察,就看到电针后随着痛阈和耐痛阈的升高,脑脊液中内啡肽含量也升高,组分I和II的含量在针刺前后均有显著差异, P 值均小于 0.05 (图 16, 表 2)。我们还采用推挽灌流法及受体结合分析法,直

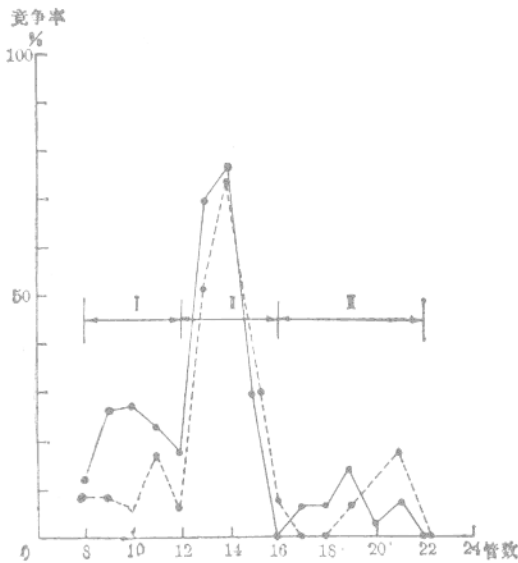


图16 手术后第二天病例“1”针刺前后的吗啡样物质在 Sephadex G-10 分子筛柱上层析的普筛活性曲线
 ●——● 针刺前的普筛活性曲线
 ●——● 针刺后的普筛活性曲线

接观察清醒家兔针刺前后脑内某些核团中内啡肽的释放变化^[8]，看到针刺镇痛时，中央灰质灌流液中内啡肽组分 I 的含量明显增加（图 17），这种增加且与电针的镇痛作用相关（ $r=0.706, P<0.05$ ）。在伏隔核，电针后内啡肽组分 I 释放也明显增加，但与痛阈之间并不相关

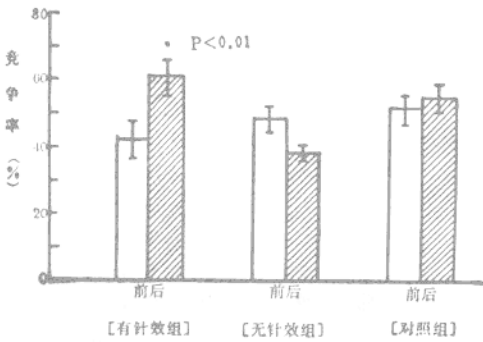


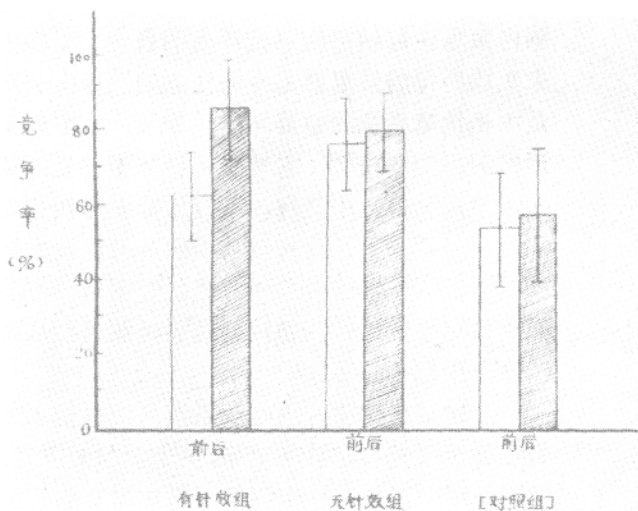
图17 电针前后中央灰质灌流液中内啡肽组分 I 的含量变化

表2 人脑脊液中针刺前和针刺后吗啡样物质含量变化情况

编号	姓名	性别	年龄	标本 I				标本 I			
				组分 I 的竞争率 (%)		组分 II 的竞争率 (%)		组分 I 的竞争率 (%)		组分 II 的竞争率 (%)	
				针 前	针 后	针 前	针 后	针 前	针 后	针 前	针 后
1	沈××	男	24	*58.0	105.1	74.5	79.7	*36.5	102.4	30.9	62.3
2	朱××	男	41	*75.5	58.4	56.2	50.5	*45.9	87.2	22.9	65.5
3	黄××	男	25	65.4	60.9	40.3	55.7	70.4	95.0	29.7	69.2
4	蔡××	男	45	*17.5	37.8	14.5	8.3	*16.2	60.3	9.6	12.7
5	顾××	男	22	*32.3	25.5	9.8	10.5	*28.4	35.3	6.2	8.8
6	方××	男	14	*41.6	49.7	11.0	10.4				
7	卞××	女	33	17.6	38.3	12.8	5.9				
8	施××	女	41	50.9	20.9	25.7	7.6				

注：*电针后痛阈和耐痛阈有明显升高。

（图 18）；尾核头部灌流液中的内啡肽组分 I，在电针镇痛时有所增加，但波动较大，统计尚不显著（图 19）；杏仁核的内啡肽释放量，在电针前后未见显著变化（图 20）。关于组分 1，它在分子筛 G-10 柱上的洗脱位置在 $0.6V_e$ 之前，而脑啡肽的洗脱峰在 $1.3V_e$ 处（图 21），说明组分 1 不同于脑啡肽，但还不能排除它可能是一种分子量较大，性质较稳定，具有脑啡肽样免疫特性的物质。



“针刺镇痛时家兔脑内4个核团推挽
灌流液中内啡肽含量的变化”
图18. 电针前后尾核灌流液中内啡
肽组分 I 的含量变化

图19. 电针前后伏隔核灌流液中内啡肽
组分 I 的含量变化

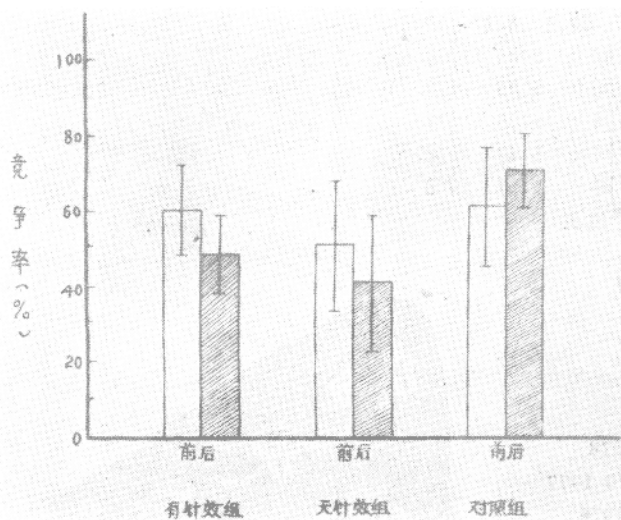
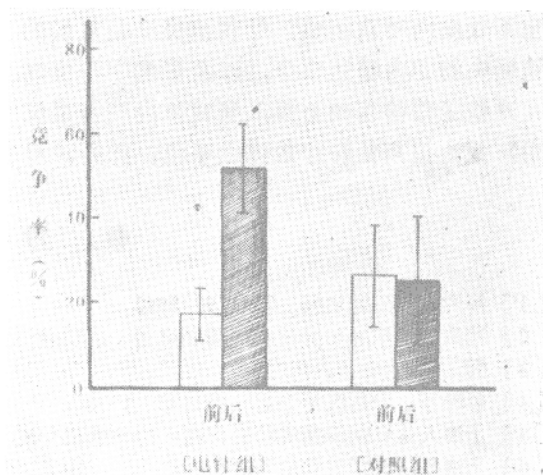


图20. 电针前后杏仁核灌流液中内
啡肽组分 I 的含量变化

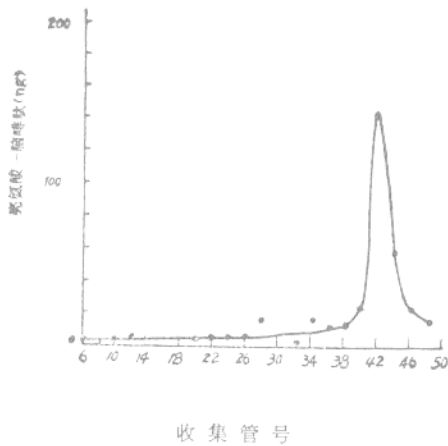


图21. 亮氨酸-脑啡肽洗脱谱

不论是对内啡肽释放变化的观察^[8],或是脑内微量注射纳洛酮对抗针效的观察^[14],在中央灰质所得的结果都是令人注意的。中央灰质是中枢抗痛系统的主要环节,又是中枢痛觉通路的重要驿站^[38],它接受各种体躯感觉的传入,然后又通过中缝核,下行地抑制脊髓背角痛觉信号的传入,这种负反馈调节可能是中枢抗痛系统的一种重要作用方式。针刺信号可能随着体躯感觉的传入途径到达中央灰质,从而激活了中枢抗痛系统^[36]。

上述结果说明,内啡肽系统从突触前水平到受体水平都参与针刺镇痛,至于参与的方式,还需要用大量的工作来阐明,例如内啡肽的生

物转化、内啡肽和其它递质之间的关系等,又由于内啡肽的功能不限于抗痛,中枢抗痛系统也不仅由内啡肽组成,针刺镇痛又是复杂的、多因素的综合结果,因此还必需同时研究针刺镇痛中的非内啡肽成分,以及影响中枢抗痛系统的各种因素(包括生理因素和药理因素)等,在这些工作的基础上深入研究体内抗痛系统的本质,必将对阐明针刺镇痛原理起关键性的作用,并为提高针麻疗效提供手段,此外,对临床解决疼痛的问题,也将起变革的作用。

参 考 文 献

- [1] 邹冈等:生理学报 25:119 1962
- [2] 北京医学院基础部针麻原理研究组 (电针耐受与吗啡耐受交叉)
- [3] 同上 (动物脑内内啡肽)
- [4] 黄晔等:中华医学杂志 58:193 1978
- [5] 上海人体针刺镇痛实验协作组:医学情况交流 6:12 1977
- [6] 上海第一医学院针麻原理研究协作组:中华医学杂志 58:611 1978
- [7] 上海第一医学院针麻原理研究协作组:上海第一医学院学报 5:13 1978
- [8] 上海第一医学院基础医学部针麻研究室等:同上 5:17 1978
- [9] 上海第一医学院基础医学部针麻研究室:同上 5:21 1978
- [10] 同上 同上 5:25 1978
- [11] 同上 同上 5:35 1978
- [12] 同上 同上 5:43 1978
- [13] 同上 同上 5:57 1978
- [14] 孙凤艳:上海第一医学院学报 1978 年待发表
- [15] 易庆成等:科学通报 4: 1978
- [16] 冈浩等:日本生理学杂志 39:350 1977
- [17] Adams JE: Pain 2:161 1976
- [18] Akil H et al: Science 191:961 1976
- [19] Akil H et al: Life Sci 23:121 1978
- [20] Béla GL, et al: Pain 5:153 1978
- [21] Belluzzi JD, et al: Life Sci. 23:99 1978
- [22] Buchsbaum MS, et al: Nature 270:620 1977
- [23] Buscher HH, et al: Nature 261:423 1976

- [24] Duggan AW, et al: Nature 264:456 1976
- [25] Frederickson RCA, et al: Fed. Proc. 36:965 1977
- [26] Goldstein A, et al: Proc. Natl. Acad. Sci. 74:1291 1977
- [27] Goldstein A, et al: Proc. Natl. Acad. Sci. 72:2041 1975
- [28] Hill RG, et al: Brain Res. 116:160 1976
- [29] Hughes J, et al: Nature 258:577 1975
- [30] Jacob JJ, et al: Psychopharmacologia 37:217 1974
- [31] Li CH, et al: Nature 263:239 1976
- [32] Martin WR, et al: J. Pharmac. Exp. Ther. 197:515 1976
- [33] Marx JL: Science 195:471 1977
- [34] Mayer DJ, et al: Brain Res. 68:73 1974
- [35] Mayer DJ, et al: Science 188:941 1975
- [36] Mayer DJ, et al: Pain 2:379 1976
- [37] Mayer DJ, et al: Brain Res. 121:368 1977
- [38] Nauta WJH: Neurosci. Res. Prog. Bull. 13:84 1975
- [39a] Pert CB, et al: Science 194:330 1976
- [39b] Pert CB, et al: Proc. Natl. Acad. Sci. 73:2226 1976
- [40] Pomeranz B, et al: Life Sci. 19:1757 1976
- [41] Pollard H, et al: Brain Res. 151:392 1978
- [42] Reynolds DV: Science 164:444 1969
- [43] Shen FH, et al: J. Pharmac. Exp. Ther. 175:427 1970
- [44] Shimon A, et al: Life Sci. 23:1143 1978
- [45] Simantov R, et al: Brain Res. 106:189 1976
- [46] Sjölund B, et al: Acta Physiol. Scand. 100:382 1977
- [47] Tortella FC et al: Fed. Proc. 37:237 1978
- [48] Yaksh TL, et al: Brain Res. 114:83 1976

针刺镇痛时家兔脑内推挽灌流液中 内啡肽含量的变化

上海第一医学院针麻研究室

张安中 黄登凯 曾大允 张玲妹 王德岑

上海第一医学院同位素中心实验室 朱根根

关于内啡肽系统与针刺镇痛的关系, 现有的实验大多在受体水平进行分析, 对于针刺镇痛时脑内内啡肽释放情况的动态观察, 迄今未见报导, 我们采用推挽灌流法及受体结合分析法^[2,3], 直接观察清醒家兔针刺前后中央灰质、尾核、伏隔核及杏仁核中内啡肽的释放变化。

材料和方法

1. 推挽灌流

家兔 2 公斤左右, 雌雄不拘, 戊巴比妥钠麻醉后藉定向仪将推挽套管插入脑内、按 Sawyer 图谱^[4], 中央灰质的座标为 $P_{9.5} L_1 H_{-1.5}$ 、尾核取 $A_2 L_3 H_{3.5}$; 伏隔核 $A_{4.5} L_1 H_{0.5}$; 杏仁核 $A_2 L_{5.0} H_{-5}$ 。用 504 粘合剂及牙托粉固定套管。术后第 4 天开始灌流, 用恒速灌流器将人工脑脊液 (在恒温 37 °C 水浴中保温) 经推挽套管的中心管注入脑内, 再经套管外管及细塑料管流出, 后者出口比兔头低 13 厘米, 预先充满人工脑脊液, 藉其重力引出灌流液, 流出液皆用冰袋保护, 最后滴入在冰浴中的试管内。灌流速度为 0.1ml/分。

推挽套管由不锈钢同心管组成, 外管和内管的外径分别为 0.9 和 0.4mm, 内管的下端比外管长 1mm。在不进行灌流时, 拔出内管, 插入芯子, 以免管腔阻塞, 芯子外径 0.6 毫米, 下端与外管长度相等。

人工脑脊液成分按 Pappenheimer^[5]报导, 用 mEq/kgH₂O 计算: Na⁺155、K⁺3、Mg⁺⁺1.6 Ca⁺⁺2.6、HCO₃⁻35、无机磷 0.5。

42 只家兔, 每只轮流按“针刺组”或“对照组”处理共灌流 2~3 次, 共 197 兔次, 每次灌流间隔 1~2 天。针刺组的处理是: 灌流 10 分钟后, 开始收集 1ml 灌流液作为针刺前对照, 然后电针一侧“合谷”和“外关”, 采用上海 G-6805 型电针仪, 频率取 2~4c/s, 刺激强度以使兔前肢轻微抖动为度, 电流 7.5~8.0mA。电针 20 分钟后, 在继续电针的条件下收集 1ml 灌流液 (灌流中央灰质时, 电针前后均收集 2ml 灌流液) 逐停针。在 2 次收集灌流液的前后都用钾离子透入法测痛阈^[6]。对照组除不上电针外, 其余条件皆与电针组同。

最后一次灌流完毕后, 经推挽套管中心管注入氨黑染料约 50μl, 隔 24 小时后处死动物, 取出整个脑子, 甲醛固定后作切片检验插管定位 (图 6)。有 3 只动物因定位不正确而被淘汰。

2. 分子筛柱层析

灌流液收集后立即在沸水浴中加热 7 分钟，真空干燥后贮于 -20℃低温冰箱，上柱前再溶于 0.4 ml 蒸馏水，在分子筛 G-10 葡聚糖柱上进行层析，柱规格为 40cm×1cm，预先用牛血清白蛋白处理，用 pH2.9 的醋酸水溶液平衡，pH5.7 的醋酸水溶液洗脱，流速 1ml/1.5 分。先弃去头上 10ml，然后收集 50 管，每管 1ml、洗脱液在火焰光度计下测钠，钠峰在 0.6~0.7Vt 处，取钠峰前的洗脱液合并为“组分 1”，以及钠峰后的洗脱液等分为二依次合并为“组分 2”及“组分 3”（尾核的灌流液则未收集“组分 3”）。各组分中的钠离子浓度均低于 0.5mM，它们经真空干燥后即进行内啡肽含量测定。

3. 内啡肽测定

采用受体结合分析法^[2,3]，所用 ³H-二氢吗啡(³H-DHM) 由本院制备，放射比度为 70Ci/mmol，受体制剂提取的大白鼠脑匀浆粗提物。实验投料按表 1 的量和顺序加入。投料完毕后在 25℃下保温 40 分钟。冰浴中冷却离心，沉淀物用冰冷的 Tris-HCl 缓冲液洗 2 次，用国产 FJ-535，双道液体闪烁计数器测定放射性。按下式计算竞争率：

竞争率 (%) = $(1 - \frac{\text{样品管的 CPM} - \text{载体管 CPM}}{\text{对照管的 CPM} - \text{载体管 CPM}}) \times 100\%$

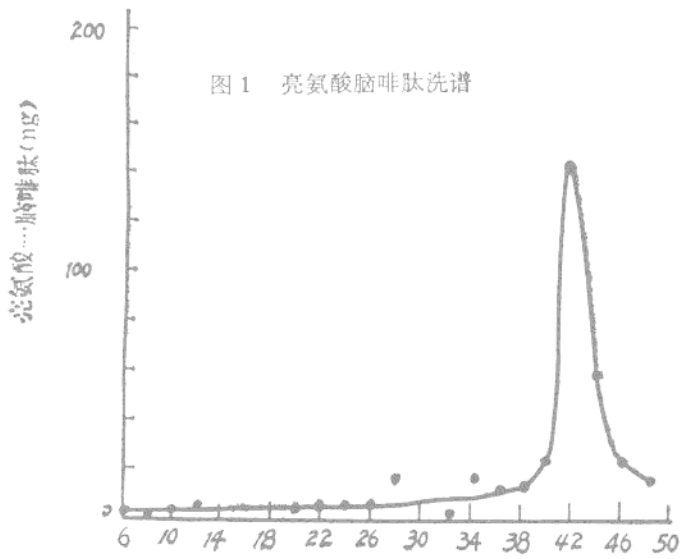


图 1 亮氨酸脑啡肽洗谱

本方法的最小检出量为 0.12 pmole 二氢吗啡，或 3ng 亮氨酸脑啡肽。

为了检验方法，取人工脑脊液 2ml，经同法柱层析等处理后，再用受体结合分析法检验，竞争率皆在 10% 以下；取亮氨酸脑啡肽（中国科学院上海生物化学研究所于 1976 年 5 月合成）0.5μg 溶于 2ml 人工脑脊液中，再经同法处理，其活性洗脱峰位于钠峰后约 1.3Vt 处（图 1）。

表1 ³H-DHM受体结合分析法测定样品时的投料

管号	组 别	Tris	待测样品	杆菌肽 (120μg)	Mn ⁺⁺ (4μm)	DHM (1.6nM)	³ H-DHM (0.32Pmol)	受 体 (2mg蛋白量)
1	载体组	按计算体积投料	—	✓	✓	✓	✓	✓
2	对照							
3	对照		—	✓	✓	—	✓	✓
4	样品							
5	样品		✓	✓	✓	—	✓	✓
6								

注：1. 符号“✓”表示加入，“—”表示不加。
2. 按计算体积投料是指控制反应总体积为0.4ml。

结 果

1. 中央灰质

10 只家兔，共进行 28 次实验，根据实验处理及结果分成三组：

(1) 有针效组——电针 20 分钟后痛阈升高一倍以上（若基础痛阈超过 1mA，则要求电针后痛阈升高 1mA 以上）者（共 10 兔次）。

(2) 无针效组——电针后痛阈升高低于上述标准，或反而降低者（共 4 兔次）。

(3) 对照组——不电针（共 14 兔次）。

对上述三组动物的灌流液中内啡肽的测定结果表明，组分 1、2、3 中皆有内啡肽活性，以抑制 ^3H -DHM 受体结合的竞争率表示，分别为 47.6 ± 3.4 （均数 $\pm$ S.E.）、 44.1 ± 2.7 及 41.7 ± 4.4 ，依次相当于 9.3、8.2 及 7.3ng 亮氨酸脑啡肽/1ml 灌流液。从图 2 可以看出，“有针效组”和“无针效组”的内啡肽组分 1 基础水平并无明显差异，但电针 20 分钟后，“有针效组”灌流液中内啡肽组分 1 较针前有明显增加，竞争率从 41.4 ± 5.84 增至 60.5 ± 5.72 （t 检验及 wilcoxon 检验 $P < 0.01$ ），“无针效组”的组分 1 内啡肽活性，针后反而减少，但统计尚不显著（ $P > 0.2$ ）内啡肽含量与痛阈改变值（针效）相关 $\gamma = 0.706$ $P < 0.05$ ；“对照组”则基本保持稳定。至于组分 2 及组分 3 的内啡肽活性，在电针前后均未见显著变化。

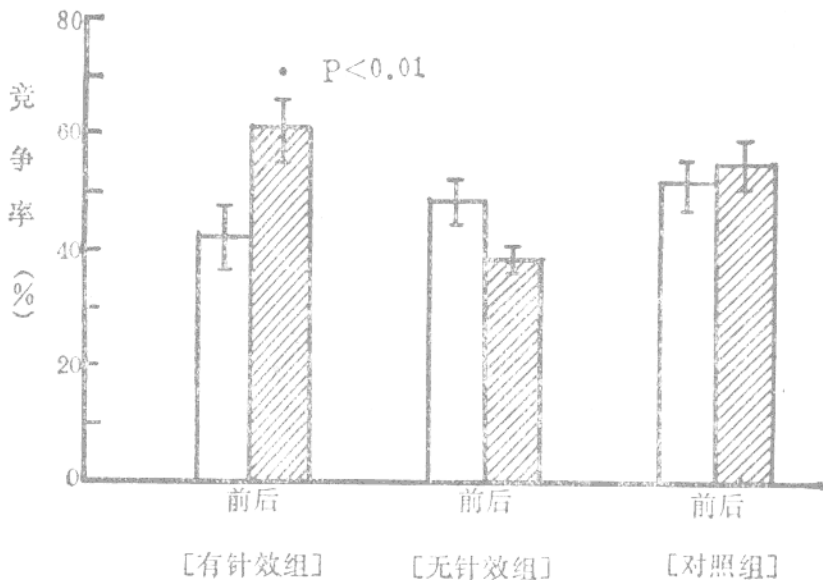


图 2 电针前后中央灰质灌流液中组分 1 的含量变化

2. 尾核

10 只家兔共灌流 17 次，17 兔次的灌流液经柱层析后收集组分 1 及 2，组分 3 未收集。组分 1 及 2 的基础值以竞争率表示，分别为 62.2 ± 5.4 及 47.9 ± 4.6 。电针 20 分钟后，“有针效组”的组分 1 从 62.1 ± 12 增至 85.2 ± 13 ，但统计尚不够显著（ $P > 0.05$ ），“无针效组”和“对照组”的组分 1 皆不增加（图 3）。组分 2 也未见显著变化。