

☆实验研究☆

# 针刺对急性手术创伤大鼠下丘脑促肾上腺皮质激素释放因子家族肽及其受体表达的影响

张彦 马淑兰 陈伯英 田占庄

(复旦大学上海医学院中西医结合系针刺原理研究所, 上海 200032)

**【摘要】** 目的: 通过观察针刺对急性手术创伤大鼠下丘脑促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)家族肽及其受体表达的影响, 探讨针刺调节急性手术创伤所导致的下丘脑垂体肾上腺(HPA)轴功能异常作用的神经内分泌机制。方法: 雄性SD大鼠40只, 随机分成正常组、创伤组、正常加电针组、创伤加电针组, 每组10只。创伤动物在乙醚麻醉下行剖腹探查术。电针组动物电针“足三里”“三阴交”30 min。应用特异性放射免疫法检测各组动物血清促肾上腺皮质激素( ACTH)、皮质肌动蛋白(Cort)、促黄体生成素(LH)和肌钙蛋白(T)的水平, 应用RT-PCR的方法观察各组动物下丘脑CRF家族肽及其受体mRNA的表达。结果: 创伤组大鼠血清ACTH水平显著下降( $P < 0.05$ ), 创伤加电针组血清ACTH水平和创伤组相比显著升高( $P < 0.05$ ); 创伤组大鼠血清Cort水平较正常组显著上升( $P < 0.05$ ), 创伤加电针组血清Cort水平较创伤组显著降低( $P < 0.05$ ); 各组动物血清LH和T水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。创伤组大鼠下丘脑CRF mRNA的表达和正常组相比降低( $P < 0.05$ ), 创伤加电针组大鼠下丘脑CRF mRNA的表达和创伤组相比升高( $P < 0.05$ ); 创伤组大鼠下丘脑Ucn 1 mRNA的表达与正常组比较升高( $P < 0.05$ ), 创伤加电针组大鼠下丘脑Ucn 1 mRNA的表达和创伤组相比下降( $P < 0.05$ ); 各组Ucn 2、Ucn 3和CRF受体1 mRNA的表达差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论: 电针效应具有多环节、多靶点的特点, 电针可能通过调整急性创伤大鼠下丘脑CRF和Ucn 1 mRNA的表达, 进而调整急性剖腹探查所致的大鼠HPA轴功能异常。

**【关键词】** 急性创伤 电针 HPA轴 CRF Ucn 1 Ucn 2 Ucn 3 CRF受体

**【中图分类号】** R 245.9<sup>+</sup>7 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1000-0607(2010)03-0163-07

## Effects of Electroacupuncture on the Expression of Corticotropin-releasing Factor (CRF) Family and CRF Receptor 1 in Traumatic Injury Rats

ZHANG Yan, MA Shur lan, CHEN Bor ying, TIAN Zhan zhuang (Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China)

**【ABSTRACT】** **Objective** To observe the effects of electroacupuncture (EA) on the abnormal hypothalamus pituitary adrenal (HPA) axis and the expression of hypothalamic corticotropin releasing factor (CRF) peptides family and CRF receptor (R) 1 mRNA in traumatized rats, so as to study its underlying mechanism in improving traumatic injury. **Methods** Forty male Sprague Dawley rats were randomly divided into normal control group ( $n = 10$ ), normal+ EA group ( $n = 10$ ), surgical trauma (model) group ( $n = 10$ ), and model+ EA group ( $n = 10$ ). Traumatic injury model was established by performing an exploratory laparotomy in the rats under anesthesia. EA (2 Hz/15 Hz, 1-2 mA) was administered for 30 min via two stainless steel needles inserted in “Zusanli” (ST 36) and “Sanyinjiao” (SP 6). Serum adrenocorticotropic hormone (ACTH), corticosterone (Cort), luteinizing hormone (LH) and testosterone (T) contents were detected by double antibody radioimmunoassay. Hypothalamic CRF and CRF R1 mRNA expression was assayed by reversed transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) technique. **Results** The serum ACTH concentration decreased significantly in model group ( $P < 0.05$ ) compared with those in normal control and normal+

项目来源: 国家重大基础研究“973”计划(No. 2007CB512500)

第一作者: 张彦(1983-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合基础研究。

通讯作者: 田占庄(1966-), 男, 博士, 硕士生导师, 副教授, 研究方向: 中西医结合基础研究。E-mail: tianvz@shmu.edu.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

EA groups, and was significantly higher in model+ EA group than that in model group ( $P < 0.05$ ). No significant difference was found between normal control and normal+ EA groups in serum ACTH levels ( $P > 0.05$ ). The serum Cort level increased significantly in model group ( $P < 0.05$ ) compared with those in normal control and normal+ EA groups, and was obviously lower in model+ EA group than that in model group ( $P < 0.05$ ). While serum LH and T contents had no apparent changes in the four groups ( $P > 0.05$ ). The expression of hypothalamic CRF mRNA decreased significantly in model group ( $P < 0.05$ ) compared with that in normal control group, but increased significantly in model+ EA group ( $P < 0.05$ ) compared with that in model group. However, no significant difference was found between normal control and normal+ EA groups in the CRF mRNA expression level. The expression of hypothalamic Ucn 1 mRNA increased significantly in model group than that in normal control group ( $P < 0.05$ ), and decreased considerably in model+ EA group than that in model group ( $P < 0.05$ ). There were no significant changes in the expression of hypothalamic Ucn 2 mRNA, Ucn 3 mRNA and CRF R1 mRNA in the four groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** EA of "Zusanli" (ST 36) and "Sanyinjiao" (SP 6) can improve surgical trauma-induced HPA disorders, which is probably related to its effects in upregulating CRF mRNA expression and downregulating Ucn 1 mRNA expression in the hypothalamus.

**【KEY WORDS】** Trauma; Electroacupuncture; HPA axis; CRF; Ucn 1; Ucn 2; Ucn 3; CRF R1

促肾上腺皮质激素释放因子(corticotrophin-releasing factor, CRF)是一种由41个氨基酸残基组成的多肽,CRF相关肽是与CRF结构和功能相似的一类肽,包括:尿皮质素1(urocortin 1, Ucn 1)、尿皮质素2(Ucn 2)、尿皮质素3(Ucn 3)。CRF和CRF相关肽构成CRF肽家族<sup>[1]</sup>。CRF及其相关肽广泛分布于啮齿类动物和人类的中枢神经系统中<sup>[2-3]</sup>。CRF功能的多样性和选择性是通过多种内源性的配体及受体实现的。现已发现5种可与CRF和Ucn结合的配体,其中3种有生理学活性的配体分别被命名为CRF R1、CRF R2、CRF结合蛋白<sup>[4-5]</sup>。CRF和Ucn 1与CRF R1都有较高的亲和力,而Ucn 2和Ucn 3与CRF R1的亲和力很低,Ucn 2和Ucn 3主要作用于CRF R2。

CRF不仅是调节下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamus-pituitary-adrenal, HPA)轴的始动因子,而且作为一种神经递质激活细胞间的信号转导发挥调节作用,以应答各种伤害性刺激。虽然对CRF在创伤中作用的研究已有报道<sup>[6-7]</sup>,但有关CRF家族肽在创伤中的变化及电针对急性创伤大鼠CRF家族肽表达影响的研究较少。对于Ucn 1的报道主要集中在其神经保护作用,如对中枢神经炎症反应相关的疾病如帕金森氏病的一些抗炎作用<sup>[8]</sup>;而对Ucn 2和Ucn 3的研究则主要集中在与炎症反应相关的一些外周疾病上,如Ucn 2参与胃肠道的抗炎作用<sup>[9]</sup>、参与抑制肿瘤的发展<sup>[10]</sup>、参与肾上腺儿茶酚胺类物质的合成和释放<sup>[11]</sup>,Ucn 3参与胰岛素的分泌和能量的平衡<sup>[12]</sup>。这些研究都是间接地与创伤相关,而直接研究创伤因素对CRF家族肽影响的报道很少。

在急性手术创伤中,HPA轴各个水平是怎样变化的?与CRF相关的肽在急性创伤中是怎样变化的?其受体在急性创伤中又是怎样变化的?电针对急性手术创伤所引起的HPA轴各水平的变化是如何调节的?本实验通过观察电针对手术创伤后大鼠血清促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)、皮质肌动蛋白(corticosterone, Cort)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和肌钙蛋白(testosterone, T)的影响,进而观察电针对下丘脑CRF、Ucn 1、Ucn 2、Ucn 3及CRF R1的基因表达的影响,从而探讨针刺在急性手术创伤中的调节机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物和分组

雄性清洁级Sprague-Dawley大鼠,体质量180~200g,由西普尔-必凯实验动物有限公司提供。喂养在12h光照和12h黑暗的条件下,自由摄食和饮水。动物在实验环境中适应1周后进行后续实验。将大鼠随机分成正常组、创伤组、正常加电针组和创伤加电针组,每组10只。

### 1.2 主要试剂和仪器

Trizol(Invitrogen公司),M-MuLV逆转录酶(MBI公司),Oligo(dT)18与RNAsin(北京博大泰康生物基因技术有限责任公司),dNTPs(上海生物工程公司),所有引物均由上海生工生物技术服务有限公司合成,2×Taq PCR Master Mix(上海莱枫生物科技有限公司)。Heraeus D-37520台式离心机(德国,Biofuge),PTG-200型PCR仪(BIO-RAD),Powerpac Universal电泳仪(BIO-RAD),SYDR-

1990 凝胶成像系统(英国, SYNGENE)。

### 1.3 造模方法

参考文献<sup>[13]</sup>, 创伤组和创伤加电针组大鼠在乙醚麻醉下行剖腹探查术。沿腹正中线做纵切口, 切口从胸骨剑突下至耻骨联合上(长约7~8 cm), 并模拟腹部脏器探查, 暴露腹部脏器1~2 min以检查有无病灶及损伤。将脏器送回腹腔, 随后进行缝合, 术中和术后适当保暖。正常组及正常加电针组大鼠不做处理。

### 1.4 针刺方法

创伤加电针组大鼠在完成剖腹探查术后, 仍处于麻醉状态时立即给予单侧右后肢的“足三里”和“三阴交”电针。用 HANS LH 2000 型电针治疗仪(北京华卫产业开发公司), 频率2 Hz/15 Hz, 疏密波, 电流强度1~2 mA, 以引起大鼠右后肢轻度抖动为宜, 持续时间30 min, 共电针1次。正常电针组大鼠电针时, 针刺穴位、针刺参数、针刺时间和次数同创伤电针组。

### 1.5 观察指标与检测方法

放射免疫法检测血清中的 ACTH、Cort、LH 和 T 的浓度; 创伤组剖腹探查术后30 min、正常电针组

电针后30 min、创伤电针组电针后30 min, 立即将动物断头处死, 正常组同时断头处死, 取躯干血, 室温放置2 h, 2 500 r/min、4 °C离心30 min, 分离血清, -70 °C保存备用。血清的 ACTH、Cort、LH、T 测定由北京华英生物技术研究所进行。

RT-PCR 方法检测下丘脑 CRF 家族肽和 CRF 受体 mRNA 的表达: 大鼠断头处死后即刻冰上取下丘脑, -70 °C保存备用。Trizol 一步法提取下丘脑组织总 RNA。M-MuLV 逆转录酶催化合成 cDNA 第一链, 反应总体积 20 µL: RNA 模板 2 µg(4 µL), Oligo(dT) 18 0.5 µg(1 µL), dNTPs 2 mmol/L(2 µL), RNAsin 20 U(0.5 µL), M-MuLV 逆转录酶 200 U(1 µL), ddH<sub>2</sub>O 7.5 µL, 5×buffer 4 µL。42 °C 反应60 min。PCR 反应总体积 50 µL, 逆转录产物 2 µL, 上、下游引物各 25 pmol, 2×Taq PCR Master Mix 25 µL。引物序列及反应条件见表1。RT-PCR 产物的检测: PCR 产物 5 µL 上样于1%琼脂糖凝胶进行电泳, 电压 150 V。应用凝胶图像分析系统进行条带吸光度分析, 经 β-actin 校正, 得到所测目的基因 mRNA 的相对吸光度值。

表1 CRF、Ucn 1、Ucn 2、Ucn 3 和 CRF 受体 1 的引物序列及 PCR 反应条件

Table 1 The primer sequence and PCR conditions for corticotrophin releasing factor (CRF), urocortin 1 (Ucn 1), Ucn 2, Ucn 3 and CRFR1 in the hypothalamus tissue

目的基因 Target gene	基因序列 Primer sequence	片段大小 Fragment size (bp)	反应条件 PCR condition
CRF	forward 5'-CAg AAC AAC AgT gCg ggC TCA CCT 3'	622	94 °C 5 min, 94 °C 1 min, 58 °C 1 min
	reverse 5'-ATT TCA TTT CCC gAT AAT CTC CAT G 3'		72 °C 1 min, 35 cycles, 72 °C 10 min
Ucn 1	forward 5'-CTg gAg CTC CAT CTT gCA CTg Gα 3'	415	94 °C 5 min, 94 °C 1 min, 58 °C 1 min
	reverse 5'-CTT gCC CAC CgA ATC gAA TAT 3'		72 °C 1 min, 30 cycles, 72 °C 10 min
Ucn 2	forward 5'-gTc TCA gCC TAc CCC TgA ggA 3'	411	94 °C 5 min, 94 °C 1 min, 58 °C 1 min
	reverse 5'-Agg TCA CCC CAT CTT TAT Gα 3'		72 °C 1 min, 30 cycles, 72 °C 10 min
Ucn 3	forward 5'-CCT CgA CCT gAg CAC TTC CAC G 3'	562	94 °C 5 min, 94 °C 1 min, 58 °C 1 min
	reverse 5'-CCT gCC Tgg TCT TTg CTT TAT TTG 3'		72 °C 1 min, 30 cycles, 72 °C 10 min
CRF R1	forward 5'-CTC Tgg gAT gTc ggA ggA gCg ACT CA 3'	433	94 °C 5 min, 94 °C 1 min, 59 °C 1 min
	reverse 5'-CCC Agg Tag TTg ATg ATg AG 3'		72 °C 1 min, 30 cycles, 72 °C 10 min

### 1.6 统计学方法

数据均以均数 ± 标准误 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ) 表示, 采用 SPSS 13.0 软件进行分析。多组间数据统计采用单因素方差分析, 方差齐性检验方差齐后, 用 *LSD* 法两两比较, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清 ACTH、Cort、LH 和 T 的浓度

创伤组血清 ACTH 的含量与正常组相比显著下降 ( $P < 0.05$ ); 创伤加电针组血清 ACTH 的含量与创伤组相比显著升高 ( $P < 0.05$ ); 正常电针组与正常组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。创伤组血清 Cort 水平与正常组比较明显升高 ( $P < 0.05$ ); 创伤加电针组血清 Cort 的水平与创伤组相比明显下降 ( $P < 0.05$ ); 正常电针组与正常组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 1 和图 2。各组间 LH 和 T 的含量比较, 差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。见图 3 和图 4。

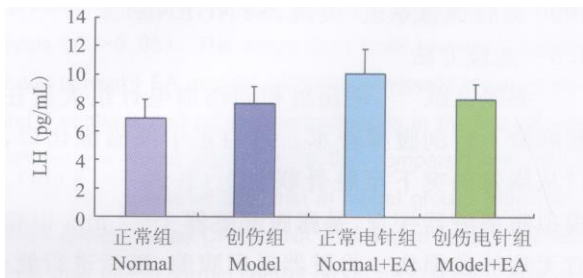


图 3 各组大鼠血清促黄体生成素(LH)的比较 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

Fig 3 Effect of EA on serum luteinizing hormone (LH) level in surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

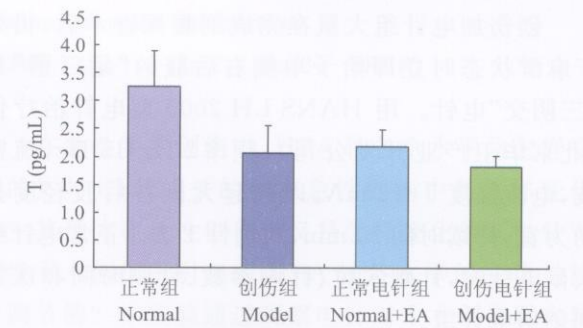


图 4 各组大鼠血清肌钙蛋白(T)的比较 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

Fig 4 Effect of EA on serum testosterone (T) content in surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

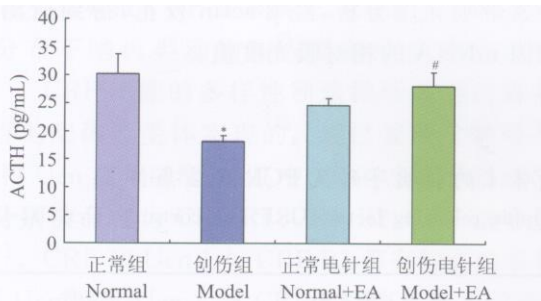


图 1 各组大鼠血清促肾上腺皮质激素 (ACTH) 的比较 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

Fig 1 Effect of electroacupuncture (EA) of “Zusanli” (ST 36) and “Sanyinjiao” (SP 6) on serum adrenocorticotrophic hormone (ACTH) levels in surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

\*  $P < 0.05$  与正常组比较 (vs normal group); #  $P < 0.05$  与创伤组比较 (vs model group). 下同 (the same below)

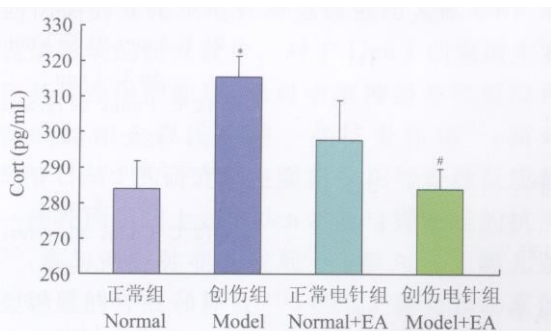


图 2 各组大鼠血清皮质肌动蛋白 (Cort) 的比较 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

Fig 2 Effect of EA on serum corticosterone (Cort) levels in surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

### 2.2 下丘脑 CRF mRNA 的表达 (见图 5)

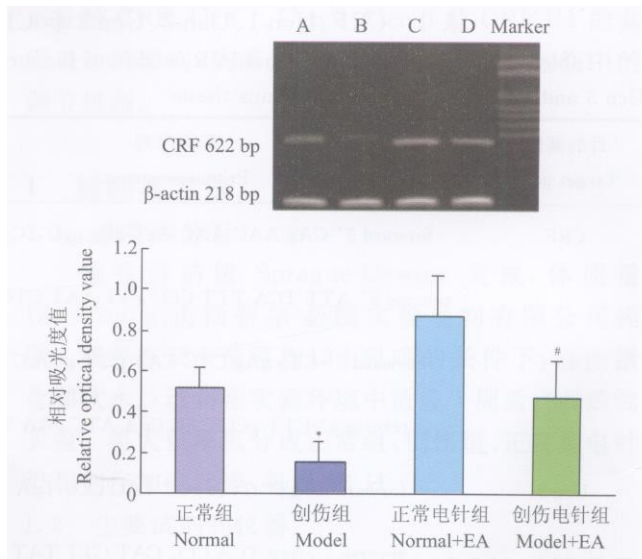


图 5 各组大鼠下丘脑促肾上腺皮质激素释放因子 (CRF) mRNA 表达的比较 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

Fig 5 Effect of EA on corticotropin releasing factor (CRF) mRNA expression in the hypothalamus of surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

A: 正常组 (normal group); B: 创伤组 (model group); C: 正常电针组 (normal+EA group); D: 创伤电针组 (model+EA group). 下同 (the same below)

与正常组相比, 创伤组大鼠下丘脑 CRF mRNA 的表达显著下降 ( $P < 0.05$ ); 与创伤组相比, 创伤加电针组大鼠下丘脑 CRF mRNA 的表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), 与正常组及正常加电针组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 正常电针组与正常组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 下丘脑 Ucn 1 mRNA 的表达

与正常组相比, 创伤组下丘脑 Ucn 1 mRNA 的表达明显上升 ( $P < 0.05$ ); 创伤加电针组与创伤组相比下丘脑 Ucn 1 mRNA 的表达下调 ( $P < 0.05$ ), 与正常组及正常加电针组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 正常电针组与正常组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 6。

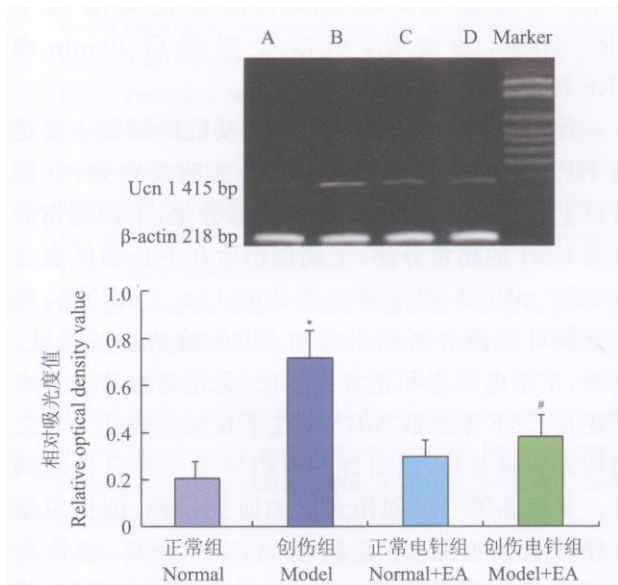


图 6 各组大鼠下丘脑尿皮质素 1 (Ucn 1) mRNA 表达的比较 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

Fig 6 Effect of EA on urocortin 1 (Ucn 1) mRNA expression in the hypothalamus of surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

### 2.4 下丘脑 Ucn 2、Ucn 3 mRNA 的表达

各组大鼠下丘脑 Ucn 2 mRNA 和 Ucn 3 mRNA 的表达比较, 差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。见图 7 和图 8。

### 2.5 下丘脑 CRF R1 mRNA 的表达

各组下丘脑 CRF R1 mRNA 的表达比较, 差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。见图 9。

## 3 讨论

CRF 的合成和释放主要受糖皮质激素和 ACTH 反馈调节。不同程度的刺激, 大鼠血清

ACTH、Cort 的变化不同<sup>[14]</sup>, 高强度的应激可以抑制 HPA 轴的反应。Choi 等研究发现当大鼠处于应激环境时, 不同时间点血清 ACTH 和 Cort 浓度不同<sup>[15]</sup>, 应激 20 min 后大鼠的血清 ACTH 已经达到峰值, 而 Cort 的峰值时间是应激后 40 min。从本实验的结果来看, 手术创伤后 30 min 大鼠的血清 ACTH 浓

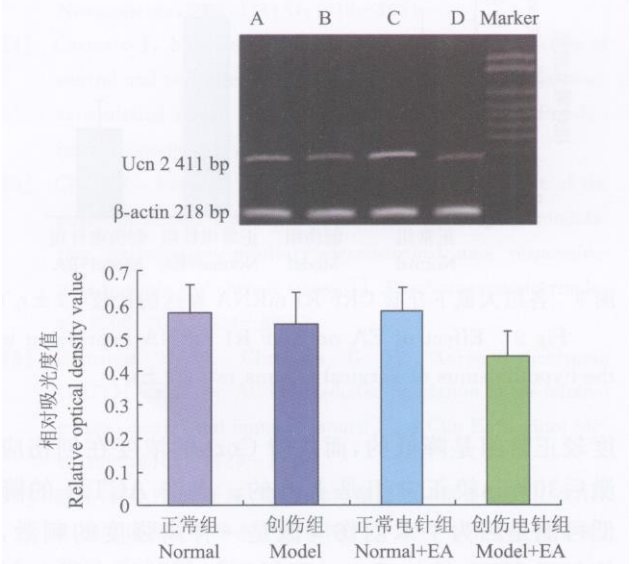


图 7 各组大鼠下丘脑尿皮质素 2 (Ucn 2) mRNA 表达的比较 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

Fig 7 Effect of EA on Ucn 2 mRNA expression in the hypothalamus of surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

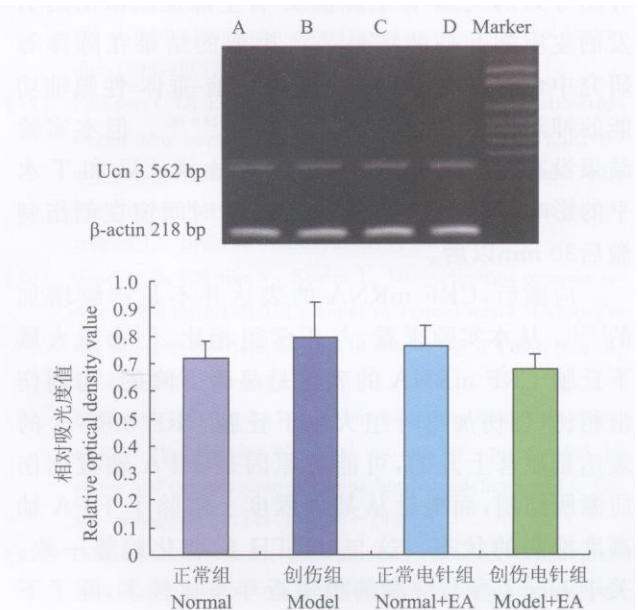


图 8 各组大鼠下丘脑尿皮质素 3 (Ucn 3) mRNA 的表达比较 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

Fig 8 Effect of EA on Ucn 3 mRNA expression in the hypothalamus of surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

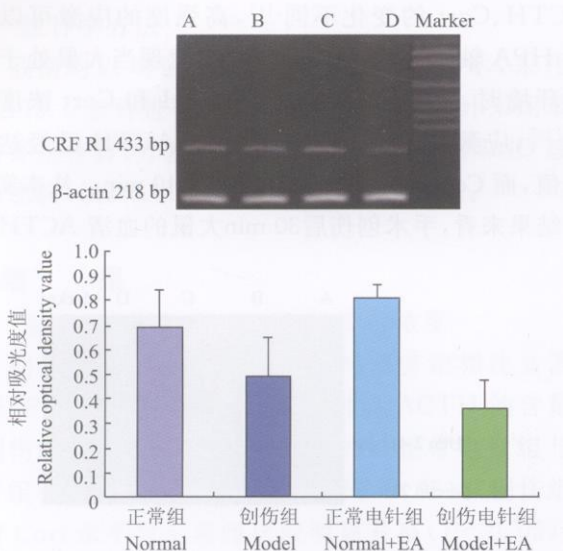


图9 各组大鼠下丘脑 CRF R1 mRNA 表达的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig 9 Effect of EA on CRF R1 mRNA expression in the hypothalamus of surgical trauma rats ( $\bar{x} \pm s$ )

度较正常组是降低的,而血清 Cort 的浓度在创伤应激后 30 min 较正常组是上升的。血清 ACTH 的降低可能是因为手术创伤应激是一种高强度的刺激,抑制了 HPA 轴的反应。而创伤加电针组大鼠与创伤组大鼠相比,血清 ACTH 的水平是显著上升的,提示电针可以提高创伤应激大鼠的应激保护反应。血 Cort 的水平升高可能是非 HPA 轴的一些免疫介质导致的交感-肾上腺髓质-肾上腺皮质激活后引发的皮质酮升高的结果<sup>[16]</sup>。类似的结果在陈萍等研究<sup>[17]</sup>中也有发现。应激对下丘脑-垂体-性腺轴功能的抑制作用已有较多文献报道<sup>[18-19]</sup>。但本实验结果没有观察到创伤应激对大鼠血清 LH 和 T 水平的影响,可能是 LH 和 T 的释放时间窗在创伤刺激后 30 min 以后。

应激后, CRF mRNA 的表达并不是持续增加的<sup>[20]</sup>。从本实验来看,与正常组相比,创伤组大鼠下丘脑 CRF mRNA 的表达是显著下降的;与创伤组相比,创伤加电针组大鼠下丘脑 CRF mRNA 的表达是显著上升的,可能的原因是 HPA 轴被创伤应激所抑制,而电针从某种程度上解除了 HPA 轴高度抑制的状态。这与 ACTH 的变化趋势一致。关于 Ucn 1 参与应激的报道近年来比较多,除了下丘脑室旁核的 CRF 参与了急性应激过程外,节前 EW 核 (nonpreganglionic Edinger Westphal nucleus, npEW) 的 Ucn 1 也参与了各种急性应激过程,并且 Ucn 1 mRNA 在急性疼痛导致的应激中是

高表达的<sup>[21-22]</sup>。而在 CRF mRNA 高表达的小鼠<sup>[22]</sup>, npEW 核的 Ucn 1 mRNA 是次表达的<sup>[21]</sup>;在 CRF mRNA 不表达的时候, Ucn 1 mRNA 是高表达的<sup>[19]</sup>。本实验下丘脑 CRF mRNA 次表达的同时, Ucn 1 mRNA 是过表达的,这一方面印证了前面的结果,另一方面也可能是 CRF 和 Ucn 1 在应激过程中是两个不同的系统相互作用的结果。

陈立朝等<sup>[6]</sup>研究显示,大鼠严重创伤后,可激活下丘脑神经元合成和分泌 CRF,其机制可能是下丘脑神经元分泌的 CRF 通过与其 CRF R1 的结合而产生的超短正反馈调节,即通过上调 CRF R1 的表达,再以旁分泌或自分泌的方式使 CRF R1 进一步促进自身分泌。但是本实验 CRF R1 并没有明显的变化,可能是 CRF R1 mRNA 的变化要滞后于 CRF mRNA 的变化,所以在创伤后 30 min 内 CRF R1 mRNA 的变化并不明显。

针刺对急性应激动物内分泌功能的调制主要是对 HPA 轴应激功能的调控。本实验观察到,针刺可以上调创伤后血清 ACTH 的低分泌,下调创伤后血清 Cort 的超常分泌,上调创伤后在下丘脑低表达的 CRF mRNA 和下调过表达的 Ucn 1 mRNA,说明针刺可以调节创伤引起的 HPA 轴功能的紊乱。此外,正常电针组和正常组相比,无论是血清激素水平还是 CRF 家族肽 mRNA 在下丘脑的表达二者之间均无明显差异,说明针刺对机体是一种良性的调节。黄颖苏等<sup>[7]</sup>对创伤大鼠的研究发现,创伤应激可导致大鼠血浆、下丘脑内 ACTH 升高,垂体内 ACTH 的含量下降,电针刺激“足三里”“阑尾”穴能使大鼠血浆、下丘脑 ACTH 水平下降,使垂体内降低的 ACTH 水平回升,同时能明显改善创伤应激诱导的免疫抑制。表明针刺相关穴位能够调节紊乱的 HPA 轴。本实验创伤后针刺“足三里”和“三阴交”使降低的血清 ACTH 浓度升高到正常水平,这可能是针刺信号使下丘脑次表达的 CRF mRNA 和高表达的 Ucn 1 mRNA 回到正常水平后的综合结果。

总之,手术创伤作为一种应激反应,不仅体现在血清激素水平的变化,还表现在下丘脑水平的 CRF 家族肽 mRNA 水平的改变。CRF 家族肽的其它成员,主要是 Ucn 1 参与了应激反应,当 HPA 轴因强烈应激而被抑制的时候, Ucn 1 mRNA 就会超表达。电针对于因应激而紊乱的内环境的调节是有益的,其机制主要是通过针刺对下丘脑 CRF mRNA 和 Ucn 1 mRNA 的调节而实现的;但是这对于创伤所

导致的过度应激的调节作用可能是有限的。

### 参考文献

- [1] Hauger R L, Grigoriadis D E, Dallman M F, et al. International union of pharmacology. XXXVI. Current status of the nomenclature for receptors for corticotropin releasing factor and their ligands[J]. *Pharmacol Rev*, 2003, 55(1): 21- 26.
- [2] Lewis K, Li C, Perrin M H, et al. Identification of urocortin III, an additional member of the corticotropin releasing factor (CRF) family with high affinity for the CRF 2 receptor[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2001, 98(13): 7570- 7575.
- [3] Reyes T M, Walker J R, DeCino C, et al. Categorically distinct acute stressors elicit dissimilar transcriptional profiles in the paraventricular nucleus of the hypothalamus[J]. *Neurosci*, 2003, 23(13): 5607- 5616.
- [4] Chen A M, Perrin M H, Digruccio M R, et al. A soluble mouse brain splice variant of type 2 $\alpha$  corticotropin releasing factor (CRF) receptor binds ligands and modulates their activity[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102(7): 2620- 2625.
- [5] Chalmers D T, Lovenberg T W, DeSouza E B. Localization of novel corticotropin releasing factor receptor (CRF<sub>2</sub>) mRNA expression to specific subcortical nuclei in rat brain: comparison with CRF<sub>1</sub> receptor mRNA expression[J]. *Neurosci*, 1995, 15(10): 6340- 6350.
- [6] 陈立朝, 许民辉, 周继红. CRH 刺激大鼠下丘脑片 CRH 及 CRH<sub>1</sub>R 表达的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2004, 26(16): 1161- 1164.
- Chen L Z, Xu M H, Zhou J H. Expression corticotrophin releasing hormone and corticotrophin releasing hormone type 1 receptor in rat hypothalamic slice after stimulation with corticotrophin releasing hormone stimulation in vitro[J]. *Di San Jun Yi Da Xue Xue Bao(Acta Acad Med Milit Tertiae, Chin)*, 2004, 26(16): 1161- 1164.
- [7] 黄颖苏, 姜建伟, 吴根诚, 等. 褪黑素和电针对创伤大鼠淋巴细胞转化功能、IL-2 活性及 ACTH 水平的影响[J]. *针刺研究*, 2003, 28(1): 42- 47.
- Huang Y S, Jiang J W, Wu G C, et al. Effects of melatonin and electroacupuncture on lymphocyte proliferation, IL-2 activity and ACTH levels in traumatic rats[J]. *Zhen Ci Yan Jiu (Acupunct Res, Chin)*, 2003, 28(1): 42- 47.
- [8] Abuirmeileh A, Harkavyi A, Lever R, et al. Urocortin, a CRF-like peptide, restores key indicators of damage in the substantia nigra in a neuroinflammatory model of Parkinson's disease[J]. *J Neuroinflammation*, 2007, 21(4): 19- 23.
- [9] Chang J, Hoy J J, Idumalla P S, et al. Urocortin 2 expression in the rat gastrointestinal tract under basal conditions and in chemical colitis[J]. *Peptides*, 2007, 28(7): 1453- 1460.
- [10] Hao Z R, Huang Y, Cleman J, et al. Urocortin 2 inhibits tumor growth via effects on vascularization and cell proliferation[J]. *PNAS*, 2008, 105(10): 3939- 3944.
- [11] Nemoto T, Mano Otagiri A, Shibasaki T. Urocortin 2 induces tyrosine hydroxylase phosphorylation in PC12 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 330(3): 821- 831.
- [12] Li C, Chen P, Vaughan J, et al. Urocortin 3 regulates glucose stimulated insulin secretion and energy homeostasis[J]. 2007, 104(10): 4206- 4211.
- [13] Zhao H, Huang H W, Wu G C, et al. Effect of corphanin FQ on interleukin 1 $\beta$  mRNA transcripts in the rat CNS[J]. *Neuroscience*, 2002, 114(3): 1019- 1031.
- [14] Carrasco J, Márquez C, Nadal R, et al. Characterization of central and peripheral components of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in the inbred Roman rat strains[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2008, 33(4): 437- 445.
- [15] Choi D C, Furay A R, Evanson N K, et al. The role of the posterior medial bed nucleus of the stria terminalis in modulating hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responsiveness to acute and chronic stress[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2008, 33(5): 659- 669.
- [16] Bornstein S R, Chrousos G P. Adrenocorticotropin (ACTH)- and non-ACTH-mediated regulation of the adrenal cortex: neural and immune inputs[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84(5): 1729- 1736.
- [17] 陈萍, 杨焕民, 李士泽, 等. 急性冷暴露对仔猪血浆中 IL-2、IL-6、ACTH 和皮质醇水平的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2009, 15(1): 91- 94.
- Chen P, Yang H M, Li S Z, et al. Effect of cold exposure on levels of IL-2, IL-6, ACTH and cortisol in plasma of piglets[J]. *Ying Yong Yu Huan Jing Sheng Wu Xue Bao (Chin J Appl Environ Biol, Chin)*, 2009, 15(1): 91- 94.
- [18] Norman R L. Effects of CRH on LH, testosterone, and cortisol secretion in intact male rhesus macaques[J]. *Biol Reprod*, 1993, 49(1): 148- 153.
- [19] Foradori C D, Lund T D, Nagahara A H, et al. Corticotropin releasing hormone heterogeneous nuclear RNA (hnRNA) and immunoreactivity are induced in extrahypothalamic brain sites by kainic acid induced seizures and are modulated by estrogen[J]. *Brain Res*, 2007, 1164: 44- 54.
- [20] Gaszner B, Csernus V, Kozicz T. Urocortinergic neurons respond in a differentiated manner to various acute stressors in the Edinger Westphal nucleus in the rat[J]. *J Comp Neurol*, 2004, 480(2): 170- 179.
- [21] Weninger S C, Peters L L, Majzoub J A. Urocortin expression in the Edinger Westphal nucleus is up regulated by stress and corticotropin releasing hormone deficiency[J]. *Endocrinology*, 2000, 141(1): 256- 263.
- [22] Dirks A, Groenink L, Bouwknecht J A, et al. Overexpression of corticotropin releasing hormone in transgenic mice and chronic stress-like autonomic and physiological alterations[J]. *Eur J Neurosci*, 2002, 16(9): 1751- 1760.

(收稿日期: 2009-11-04 修回日期: 2010-02-20)