

·基础研究·

脾俞、足三里穴位注射对抑郁大鼠行为学及细胞因子 IL-1 β 、IL-6 的影响

苗裕¹ 艾群^{1,2}

摘要 目的:探讨穴位注射脾俞、足三里穴对慢性应激抑郁模型大鼠的调节作用。**方法:**复制慢性应激抑郁大鼠模型,用黄芪注射液穴位注射动物脾俞、足三里穴,观察其对该动物行为学及细胞因子 IL-1 β 、IL-6 改变方面的影响。**结果:**穴位注射组可显著改变动物模型的行为学指标,降低抑郁大鼠血浆中的 IL-1 β 、IL-6 的含量,使其接近正常水平。**结论:**抑郁大鼠的 IL-1 β 、IL-6 的含量高于正常,可能在抑郁症的发病中起一定作用;穴位注射治疗抑郁症有应用前景,可能是通过降低 IL-1 β 、IL-6 的含量而发挥抗抑郁作用的。

关键词 穴位注射;应激抑郁模型;行为;细胞因子;黄芪注射液;大鼠

中图分类号: R493,R873 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-08-0696-03

The effect of Pishu and Zusanli points injection on the behavior and IL-1 β ,IL-6 in plasma of depression rats/MIAO Yu, AI Qun//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007,22(8):696—698

Abstract Objective: To investigate the regulative effect of Pishu and Zusanli points injection on chronic stress depression rats. **Method:** Establish the model of chronic stress depression rats, Pishu and Zusanli Points were injected with Astragali in the rats to observe its effect on the Behavior and IL-1 β ,IL-6 in Plasma. **Result:** The behavior index changed significantly in the points injection group, and the levels of IL-1 β ,IL-6 in Plasma of Depression Rats were reduced to approach to normal. **Conclusion:** The levels of IL-1 β ,IL-6 in plasma of depression rats were higher than normal.It may has an effect on the onset of depressive disorder. Points injection may has antagonism against depression by lowering the levels of IL-1 β ,IL-6 in Plasma. It is a nice prospective application on treating depression.

Author's address The Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Liaoning, 116027

Key words points injection; stress depression model; behavior; interleukins; Astragali; rat

抑郁症是临床最常见的精神疾患之一,世界卫生组织预测 2020 年抑郁症将成为全球第二位威胁人类健康、增加经济负担的疾患^[1]。慢性应激模型作为一种有效的抑郁模型,已被广泛应用于抑郁症的基础研究和各种治疗方法筛选。本实验通过观察黄芪注射液穴位注射(以后简称穴注)脾俞、足三里穴对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及大鼠血浆中的细胞因子白细胞介素-1 β (interleukins,IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)的影响,并与西药氟西汀(百优解)治疗进行对比,探讨此疗法抗抑郁的作用,为临床提供实验依据。

细胞因子是由活化免疫细胞分泌的具有重要生物活性的小分子蛋白或多肽。它们同神经递质和激素一样,是免疫系统与中枢神经系统和内分泌系统之间信息交流的重要信息分子,在维持机体内稳态以及某些病理状态中起着重要的调节作用。当机体面临各种生理和/或心理应激时,这些信号起到调动全身能源维持机体平衡状态的作用。以上提示细胞因子可能参与特定精神疾病的病理生理过程和发病

机制。

1 材料与方法

1.1 动物选择

成年 Wistar 大鼠,体重 180—220g,雌雄各半(大连医科大学实验动物中心),首先用 Open-Field 法进行行为学评分,选择得分相近的 32 只大鼠。

1.2 穴位的选择与穴注方法

1.2.1 选穴:根据中国针灸学会实验针灸分会制定的《动物针灸穴位图谱》,穴位注射组取双侧脾俞、足三里。

1.2.2 穴注剂量:200g 左右大鼠约用黄芪注射液 1ml,穴位对药物的吸收较肌肉敏感,穴位注射剂量取常规注射剂量的 1/2,即 0.5ml,每穴约 0.25ml。双侧穴位左右交替(大鼠体重个体差异不大,本次实验

1 大连医科大学第二附属医院中医科,116027

2 通讯作者:艾群(大连医科大学第二附属医院中医科,116027)

作者简介:苗裕,女,硕士,助教

收稿日期:2006-08-30

药物的注射剂量未做个体调整)。

1.2.3 穴注方法:用1ml一次性注射器抽取规定剂量药液后,将针刺入俞穴,回抽无血后注入,1次/日。

1.3 实验方法

按参考文献[2]进行抑郁症大鼠模型的复制。将大鼠随机分为正常组、模型组、穴位注射组和氟西汀治疗组,每组8只。正常组每笼4只,常规饲养,不予任何刺激和治疗。除正常组外,全部每笼1只孤养,均接受21d各种不同的应激,包括冰水游泳(4℃,5min)、夹尾(3min)、禁水(40h)、禁食(40h)、配对饲养、潮湿、束缚和通宵照明刺激,平均每种刺激2—3次。模型组不予任何治疗,穴位注射组和氟西汀组在模型制作同时施用不同的治疗措施。其中氟西汀组根据公式换算,2.8mg/kg给予药物,相当于70kg体重成人临床用量,灌胃;穴位注射组用黄芪注射液注射大鼠单侧脾俞、足三里穴。以上治疗每日1次,连续21d。

1.4 行为学测定

Open-Field法观察行为^[3]第22d采用Open-Field法观察动物行为。本实验所用敞箱为立方体,高40cm,长宽80cm,周壁、底面为黑色,底面由面积相等的25块组成,用白线划分。以动物穿越底面块数为水平活动(crossing)得分,以直立次数为垂直活动(rearing)得分。第22d进行观察,每只动物测定1次,每次测定时间为3min,计数水平活动得分和垂直活动得分。

1.5 细胞因子的测定

第22d测定行为学指标后,所有的大鼠常规眼眶后静脉丛采血2ml,加肝素抗凝,离心后取血浆。用ELISA方法测定大鼠血浆中IL-1β,IL-6的含量。试剂分别采用美国RB试剂公司(批号11250533)及北京晶美生物工程公司(批号20051205),严格按照试剂盒使用说明操作。

1.6 统计学分析

以均数±标准差表示,统计分析用SPSS13.0。组间比较,应用单因素方差分析法检验,两两比较采用LSD法。

2 结果

2.1 各组大鼠 Open-Field 行为结果变化的影响

经F检验分析表明存在组间差异,水平活动得分结果统计F值为16.827,P值<0.001;垂直活动得分结果统计F值为3.008,P值<0.05。

经LSD法分析示:正常组相比模型组动物,水平得分与垂直得分均有显著差异(P<0.01);穴位注射

组、氟西汀组与模型组比较,水平得分与垂直得分均有差异显著(P<0.05—0.01);穴位注射组与氟西汀组的得分不存在显著差异(P>0.05)。见表1。

2.2 各组大鼠血浆中 IL-1β,IL-6 水平变化的影响

经F检验分析表明存在组间差异,IL-1β结果统计F值为27.207,P值为0.000;IL-6结果统计F值为154.491,P值<0.001。经LSD法分析示:正常组与模型组动物,IL-1β和IL-6均有显著差异(P<0.01);穴位注射组、氟西汀组与模型组比较,两组IL-1β和IL-6均有差异显著(P<0.01);穴位注射组与氟西汀组之间IL-1β和IL-6均存在显著差异,(P=0.01)。见表2。

表1 各组大鼠 Open-Field 行为结果变化的影响 (x̄±s)

组别	鼠数	水平活动得分	垂直活动得分
正常组	8	40.63±6.55	12.50±4.18
模型组	8	15.50±2.92	6.75±1.49
穴位注射组	8	28.88±9.45	10.25±3.54
百优解组	8	31.63±7.69	10.62±3.81

表2 各组大鼠血浆中 IL-1β,IL-6 水平变化的影响 (x̄±s)

组别	鼠数	IL-1β(ng/ml)	IL-6(pg/ml)
正常组	8	3.284±0.237	50.935±2.087
模型组	8	4.563±0.253	70.344±1.983
穴位注射组	8	3.744±0.414	56.324±2.207
百优解组	8	3.287±0.368	52.925±1.654

3 讨论

目前抑郁症的动物模型较多^[4],可分为药理学模型、应激模型、脑损伤模型、孤养模型等,其中慢性应激模型其理论依据与人类抑郁症中慢性、低水平的应激源导致抑郁症的发生并加速抑郁症发展的机制更接近,且经典的抗抑郁治疗对之有效,故作为抑郁模型具有较高的价值,是目前广泛使用的抑郁模型之一。常用于抗抑郁药物的筛选、临床作用机制及抑郁症病理生理机制的研究。

本文综合应激和孤养两种经典模型,在模型制作过程中,可以发现,大鼠抑郁模型表现出的活动能力下降、好奇心减弱、快感丧失与抑郁症患者临床表现出的运动迟滞、情绪低落、忧虑沮丧、精神萎靡症状极为相似。同时,可见抑郁大鼠摄食量明显减少及体重减轻,这与抑郁症患者的食欲降低、消瘦相类似。本实验第22d测定的行为学指标及动物血浆中细胞因子IL-1β,IL-6含量的变化,其模型组与正常对照组相比,均有显著性差异(P<0.05)。说明我们本次实验的慢性应激模型制作是成功和可靠的。

《脾胃论-脾胃虚实传变论》曰:“饮食不节,寒温不适,脾胃乃伤;喜怒忧恐,损耗元气,资助心火,火与元气不两立,火胜则乘其土位,病生阴位,得之饮

食居处, 阴阳喜怒”, 以上论述, 可见饮食不节, 寒温不适, 情志不遂等慢性应激刺激, 均是脾胃损伤的病因。此时易出现无明显原因持续性疲劳感, 嗜卧少动, 倦怠乏力, 四肢消瘦, 运动迟缓。

“脾为生痰之源”, 痰浊为致郁的重要病理因素之一。脾虚生痰, 痰浊上蒙清窍, 则见头昏头重, 睡眠过多, 精神不振, 甚至神志恍惚, 记忆力减退; 痰浊痹阻胸膜, 则见胸闷不舒, 脘痞腹胀; 痰浊留与筋骨皮肉, 则见四肢倦怠, 活动明显减少。由上可见, 脾胃与神志相关, 在抑郁症的发病中占有重要地位, 抑郁症发病的诸多病理因素的产生与中焦脾胃功能失调密切相关。因此, 强健脾胃运化功能, 杜绝生痰之源, 气血充足, 心有所养, 心神则宁, 对抑郁症的治疗具有重要的作用。

本次实验, 治疗抑郁症从调整中焦脾胃功能入手。穴位注射组选用的注射用药是入脾经, 具有益气补中功效的黄芪注射液。穴位选择脾的背俞穴“脾俞”和胃的下合穴“足三里”。

除了具有介导免疫细胞相互传递信息的功能外, 越来越多的证据提示特定的细胞因子还促使脑产生神经化学物质及神经内分泌激素、引起神经免疫和行为的改变。以 NE 和 5-HT 为主的中枢多种神经递质异常是抑郁症生化病理研究的主要内容。前炎症细胞因子是潜在的 HPA 轴的激活子。糖皮质激素和前炎症细胞因子的过度分泌可导致 NE 和 5-HT 系统功能障碍, 从而引起抑郁。近十年来, 有关细胞因子可调节脑内神经递质功能的研究日趋深入。动物试验表明: 激活炎症反应系统可导致视交叉前细胞的 NE 增加和海马细胞 5-HT 分泌的增加; IL-1 β 使下丘脑和脑干内的 NE 含量下降, 前脑和脑干内的色氨酸含量增加; IL-6 使海马和前额叶内的 5-HT 和 DA 神经元活动增加^[5]。黄庆军等^[6]发现在利血平引起的大鼠行为性抑郁模型中, 大鼠下丘脑、海马和大脑皮质中 IL-1 β 的含量增高, 其中以下丘脑最为明显, 并且 IL-1 受体拮抗剂可以减轻利血平引起的行为性抑郁。临床实验也同样证明了细胞因子 IL-1 β 、IL-6 水平与抑郁症的产生和治疗反应密切相关^[7]。Anima 等发现抑郁症患者 IL-1 β 产生增加, 且增加程度与患者发病年龄和病程显著相关^[8]。Owen 等^[9]再次发现抑郁症与 IL-1 β 产生增加相关, 并且认为是抑郁导致 IL-1 β 增加, IL-1 β 是抑郁症的一个特异性指标。因为无论是心因性还是躯体反应性抑郁, 外周和中枢的 IL-1 β 增加和炎症反应系

统的激活, 都可引起抑郁症状或抑郁症, 并且其最终可归结于 HPA 轴的高度激活, 范长河等^[10]研究结果显示抑郁症组血清 IL-6 水平与抑郁症精神病理学关系密切。与 HAMD 总分及焦虑/躯体化、睡眠障碍、绝望感因子分有显著正相关关系, 提示炎症细胞因子 IL-6 血清浓度反映了抑郁的严重程度以及部分症状群的严重程度。

本实验结果显示, 抑郁大鼠的 IL-1 β 、IL-6 的含量高于正常, 可能在抑郁症的发病中起一定作用。穴注组和氟西汀组均能改善模型大鼠的抑郁状态。本实验经过统计分析, 穴注组与氟西汀组行为学指标改善基本相同, 差异无显著性; 大鼠血浆中 IL-1 β 、IL-6 水平变化有差异, 但穴注组与模型组大鼠该指标比较差异显著。表明使用黄芪注射液穴位注射脾俞、足三里穴法具有一定的抗抑郁作用。中国传统的针灸结合药物药理作用的穴位注射法, 对穴位产生了双重刺激, 发挥其综合效能, 从而提高了疗效。此法与西药相比, 具有价格低廉、无毒副作用、简单易行、易于推广等优点, 可以作为治疗抑郁症的方法而应用临床。其相关机制, 有待于进一步探讨。

参考文献

- [1] Kupfer DJ. Research in affective disorders comes of age [J]. *Am J Psychiatry*, 1999, 156: 165—167.
- [2] 王雪琦, 路长林, 李丽云. 大鼠抑郁模型的脑磁共振成像研究 [J]. *中华精神科杂志*, 1999, 32(1): 12.
- [3] Katz R J, Roth K A, Carroll RJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1981, 5(2): 247—251.
- [4] 吕俊华, 钟玲. 实验性抑郁症动物模型的评价 [J]. *中国病理生理杂志*, 2001, 17(9): 916—919.
- [5] 陈群, 罗小年. 抑郁症病人细胞因子的产生与治疗反应 [J]. *国外医学·精神病学分册*, 2002, 29(3): 147—150.
- [6] 黄庆军, 郝新玲. 脑内白介素-1 β 介导利血平引起的大鼠行为性抑郁 [J]. *中国行为医学科学*, 2003, 12(5): 491—492.
- [7] Kagaya A, Takebagashi M. Plasma concentrations of interleukin-1 beta, interleukin-6, soluble interleukin-2 receptor and tumor necrosis factor alpha of depressed patients in Japan [J]. *Neuropsychobiology* 2001, 43: 59—62.
- [8] Prolo P, Licinio J. Cytokines in affective disorders and schizophrenia: new clinical and genetic findings. [J] *Mol Psychiatry*, 1999, 4(2): 109—111.
- [9] Owen BM, Eccleston D, Ferrier IN, et al. Raised levels of plasma interleukin-1beta in major and postviral depression [J]. *Acta Psychiatr Scand*, 2001, 103(3): 226—228.
- [10] 范长河, 谢光荣, 陈风华等. 抑郁症患者血清炎症细胞因子和急性期反应蛋白水平及其意义 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2000, 26(5): 272—275.