维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)05-0684-04

CCK对孤束核中胃扩张相关神经元电活动的影响

王 芳,陆 杰,陈 卫,隋 红

(重庆医科大学基础医学院生理教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究胆囊收缩素对孤束核中胃扩张相关神经元电活动的影响。方法:记录乌拉坦麻醉大鼠孤束核内胃扩张相关神经元的电活动,观察胃扩张以及静脉注射 CCK 对神经元电活动的影响。结果:外周静脉注射 CCK 对孤束核内胃扩张相关神经元自发电活动的影响是多样的,既具有兴奋效应(9/14),也具有抑制效应(5/14)。但对于胃扩张诱发的孤束核神经元放电,不管是胃扩张兴奋性神经元还是胃扩张抑制性神经元,CCK 均表现为抑制效应。结论:外周 CCK 可以影响孤束核内胃扩张相关神经元的活动。

【关键词】胆囊收缩素;孤束核;胃扩张

【中国图书分类号】R338.8 【文献标识码】A 【收稿日期】2005-12-31

Effect of Cholecystokinin on Electricity Activity of Gastric Distention Related Neurons in NTS

WANG Fang, et al

(*Department of Physiology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the effect of cholecystokinin on electricity activity of gastric distention related neurons in the nucleus of tractus solitarius. *Methods:* The effects of gastric distention and intravenous CCK on electricity activity of gastric distention related neurons in the nucleus of tractus solitarius were investigated in urethane anesthetized rats.*Results*: Intravenous CCK could obviously influence the spontaneous activity of gastric distention related neurons in the nucleus of tractus solitarius.Intravenous CCK could increase the discharge of gastric distention (GD) excited neurons (9/14) and decrease the discharge of GD inhibited neurons (5/14) in NTS. Howerer, the effect of CCK on gastric distention-induced discharge of GD related neurons was always inhibitory.*Conclusion*: Circulating CCK and gastric distention have both excitatory and inhibitory effects on the electricity activity of gastric distention related neurons in NTS, but the effect of CCK on gastric distention-induced discharge of GD related neurons is inhibitory.The effect of gastric distention on spantenous discharge of neurons in NTS is similar to circulating CCK.

【Key words】Cholecystokinin; The Nucleus of Solitary Tract; Gastric Distention

胆囊收缩素(Cholecystokinin,CCK)是一种广泛分布于消化系统、中枢及外周神经系统的脑肠肽,参与机体多种生理功能的调控,特别是对胃肠道功能具有重要的调节作用。作为一种脑肠肽,CCK 在中枢神经系统内可通过作用于胃肠相关神经元发挥其调节作用。电泳法向孤束核内注入微量 CCK,可改变由扩张胃引起的迷走神经背核的电活动[1,2]。大鼠大脑边缘系统杏仁核内注入 CCK-8 可以降低胃内压,减慢胃排空[3]。此外,下丘脑腹内侧区或侧脑室微量注入 CCK 也可以明显抑制胃运动。迷走神经切断可消除其作用,提示中枢内 CCK 对胃运动的调控需要迷走神经的参与。但是外周静脉注射的 CCK 对中枢神经系统内胃肠相关神经元的电活动有何影响,外周 CCK 是否可以通过影响胃肠相关神经元的活动来调节胃肠功能还有待进一步研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 Sprague-Dawley(SD)大鼠 42 只,体重 230~330g,雌雄不拘,由重庆医科大学实验动物中心提供。实验前禁食 24h,自由饮水。

作者介绍:王 芳(1979-),女,硕士研究生,主要研究方向:神经生理。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.2 主要试剂

CCK-8 由美国罗彻斯特大学医学中心消化和肝病中心馈赠，用 0.2%小牛血清白蛋白配置成 0.5 μg/ml 的溶液，备用。

1.3 孤束核内单个神经元电活动的引导与记录

大鼠以 20%乌拉坦腹腔注射麻醉（20% Urethane，6ml/kg 体重），进行气管插管和一侧颈静脉插管。分离一侧颈部迷走神经（一般为右侧），安放一对银丝刺激电极，并用浸有石蜡油的棉花将其与周围组织隔开，每隔 5s 给予一个串长刺激，刺激参数：恒压 5V 左右，波宽 0.3ms，波间隔 1ms，串长 5 个。腹部剑突下皮肤正中切口，于胃大弯膜部作切口，将扩张用的水囊经胃大弯切口置入胃体部，实验时向水囊内注水 3ml（1ml/s）扩张胃作为对胃壁机械感受器的刺激。动物俯卧位固定于大鼠脑立体定位仪上，开颅，暴露延髓以及闩部（Obex），按照 Paxinos-Watson 图谱在孤束核区（坐标：以 Obex 为零点，前后 0~0.5mm；旁开 0mm~1.0mm；深度 0~0.9mm）用钨丝微电极（Freserick Haer & Co.，美国）引导细胞单位放电。引导的电位经 AVB-11 生物电放大器放大后，在 VC-10 型记忆示波器上实时观察，并用 DAB-1100 直方图仪作脉冲计数直方图处理。然后用 RJG-4022 记录仪（均为日本光电）记录，用 BI-2000 图象分析系统（成都泰盟）对记录到的直方图计算面积。

整个实验中动物肛温保持在 38℃左右，并持续监测心电。手术操作完成后，各项指标在稳定 15min 后进行记录。

部分动物实验结束后，进行孤束核定位标记，与图谱对比鉴定记录部位。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 统计软件作处理。实验数据用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，实验组内进行配对 t 检验，以 $P<0.05$ 为有显著性差异。

2 结 果

2.1 延髓孤束核内的胃相关神经元

实验观察了 42 只大鼠，共记录到孤束核内神经元 137 个。与电刺激颈部迷走神经以及胃扩张相关的神经元共有 46 个，其中仅与刺激迷走神经相关的神经元有 20 个，刺激引起放电频率增加的有 12 个（12/20，60%），刺激引起放电频率减少的神经元有 8 个（8/20，40%）。有 26 个神经元对颈部迷走神经刺激和胃扩张（Gastric Dstention，GD）刺激均有反应，扩胃和迷走神经刺激对神经元放电的影响基本一致，GD 导致放电频率增加的孤束核神经元有 15 个（15/26，57.7%），为 GD 兴奋性神经元（GD-E）。GD 导致放电频率减少的神经元有 11 个（11/26，42.3%），为 GD 抑制性神经元（GD-I）。除此以外还观察到放电频率与呼吸运动密切相关的神经元 49 个，其中吸气相关神经元和呼气相关神经元各有 23 个，呼气 - 吸气神经元 1 个，吸气 - 呼气神经元 2 个。放电频率与心率相近的神经元 2 个，与所有刺激均没有关系的孤束核神经元 40 个。

2.2 CCK 对孤束核内胃扩张相关神经元自发放电的影响

实验中对记录到的 26 个孤束核胃扩张相关神经元进行了进一步的实验，观察静脉注射 CCK（0.06 μg/kg，bolus 注射）对其电活动的影响，持续观察 30min。这 26 个神经元中有 14 个神经元在观察的 30min 内放电稳定，因此，对这 14 个神经元采集的数据进行了统计分析。

14 个放电稳定的胃扩张相关神经元中有 9 个为扩胃兴奋性神经元，对静脉给予的 CCK 也表现为兴奋反应。给药后即刻神经元自发放电就明显增加（$P<0.05$），放电直方图面积从给药前的 239 ± 20，增加到给药后的 336 ± 36。在给药后 15min 内放电保持稳定，20min 后放电有所减少，趋于恢复，但在观察结束时仍未恢复到给药前的水平（$P<0.05$）。有 5 个神经元为扩胃抑制性神经元，神经元对静脉给予的 CCK 表现为抑制效应。给药后 5min 神经元的自发放电就明显降低（$P<0.05$），放电直方图面积从给药前 229 ± 11，减少到 142 ± 33。观察期间，神经元放电持续降低，直至给药后 20min 趋于稳定并维持到观察结束。观察的 30min 内，放电没有明显的恢复（$P<0.05$）（图 1、图 2、表 1）。

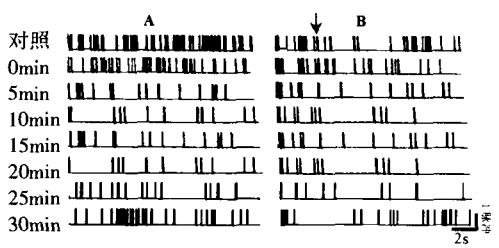


图 1 CCK 对孤束核内扩胃抑制性神经元自发及诱发放电的影响

A 自发放电 B 胃扩张诱发放电 ↓ 扩胃

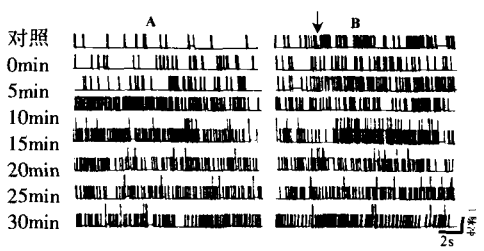


图 2 CCK 对孤束核内扩胃兴奋性神经元自发及诱发放电的影响

A：自发放电 B：胃扩张诱发放电 ↓：扩胃

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 CCK 对孤束核内 GD 相关神经元自发放电的影响

	Area of Discharge of GD Related Neurons in NTS							
	Control	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25min	30min
GD-E	239 ± 20	336 ± 36*	356 ± 52*	347 ± 37*	353 ± 56*	321 ± 42*	308 ± 55*	310 ± 54*
GD-I	229 ± 11	192 ± 37	142 ± 33*	109 ± 19*	95 ± 28*	86 ± 27*	88 ± 27*	92 ± 25*

*$P < 0.05$ vs Control group

2.3 CCK 对孤束核内胃扩张相关神经元诱发放电的影响

本实验用扩胃时神经元的放电面积减去神经元自发放电面积，所得放电面积的差，来反映除去 CCK 对神经元自发放电的影响后，扩胃与 CCK 共同作用对神经元电活动的影响。发现静脉给予 CCK 0.06 μg/kg 后，孤束核内 GD 相关神经元对 GD 的反应性发生了明显的改变。不管是 GD 兴奋性神经元还是 GD 抑制性神经元，给予 CCK 后神经元对胃扩张的反应性都有明显降低，CCK 可以抑制神经元对胃扩张的反应。9 个胃扩张兴奋性神经元在静脉给予 CCK 后，胃扩张对神经元的兴奋作用减弱，5 个胃扩张抑制性神经元在静脉给予 CCK 后，扩胃对神经元放电的抑制作用也明显减弱（表 2）。

表 2 CCK 对孤束核内 GD 相关神经元诱发放电的影响

	Area of Discharge of GD Related Neurons in NTS							
	Contral	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
GD - E	239 ± 16	180 ± 47*	195 ± 40*	198 ± 28*	187 ± 39*	197 ± 45*	190 ± 47*	159 ± 38*
GD - I	−120 ± 19	−79 ± 21*	−80 ± 21*	−51 ± 23*	−47 ± 17*	−61 ± 19*	−61 ± 19*	−47 ± 17*

* $P < 0.05$ vs Control group

3 讨 论

孤束核（The Nucleus of Tractus Solitarius，NTS）是内脏感觉传入的接替站，与其它部位存在复杂的结构和功能联系。迷走神经传入冲动在脑内有很广泛的投射，在延髓，孤束核是迷走神经传入投射的主要核团。Crawley 等[4]用损伤迷走神经、孤束核、中脑和室旁核的方法，证明迷走神经可将胃肠道传入信息传到 NTS，而后再与脑内的其他结构联系，调节胃肠道的分泌和运动功能。Barber 等[5]人发现，延髓孤束核内有胃活动相关神经元，但胃扩张 - 迷走传入冲动与孤束核之间如何联系，至今仍缺少直接的电生理学依据。

CCK 作为一种脑肠肽，在中枢神经系统可直接作用于 NTS 内的胃肠相关神经元，发挥其调节作用。向 NTS 内微电泳 CCK 可以通过与神经元上相应的位点结合，引起抑制性中间神经元的兴奋，从而抑制 NTS 中其他神经元的单位放电[6]。这说明CCK 可以在延髓水平调节胃肠道的传入信息。近年 Willing 等[7]研究表明，胃扩张刺激可引起延髓迷走复合体神经元电活动和 c-fos 表达的增强，胃扩张程度与核团内神经元 c-fos 表达强度呈线性关系，由此推测接受胃壁机械感受器传入冲动的二级神经元存在于 NTS。

本实验用电生理学技术，采用细胞外记录的方法，用金属微电极记录麻醉大鼠 NTS 区神经元的单位放电，并观察胃扩张以及外周静脉注射 CCK 对其的影响。结果发现，静脉注射 CCK 对 NTS 中扩胃兴奋性神经元的自发放电具有增频效应，而对 NTS 中扩胃抑制性神经元的自发放电表现为减频作用，即胃扩张与 CCK 对 NTS 中神经元自发电活动的作用是一致的，提示他们可能是通过相同的途径影响中枢的活动。而对于 NTS 中 GD 相关神经元的扩胃诱发反应，不管是扩胃兴奋性神经元还是扩胃抑制性神经元，CCK 均可以引起神经元诱发放电的抑制，即给予 CCK 后，NTS 中的神经元对胃扩张的反应性降低了，同等程度扩胃引起的神经元的放电减少了。

CCK 以及胃扩张对 NTS 中神经元电活动的影响是如何发挥的呢？我们的工作以及前人的实验已经证明，外周的 CCK 可通过作用于相应部位的 CCK-A 受体，引起迷走神经传入放电的增加，扩胃也可以通过刺激胃的机械感受器引起迷走传入的增加。大多数的迷走传入神经都是向 NTS 投射，迷走神经与 NTS 神经元之间存在单突触联系，因此有

维普资讯 http://www.cqvip.com

理由相信迷走神经传入放电的改变必然导致 NTS 神经元电活动的变化。但胃扩张和静脉注射 CCK 对迷走神经的传入放电总是表现为兴奋效应，而对接受传入信号的 NTS 神经元却既有兴奋效应，也有抑制效应。分析其原因可能是，迷走神经接受胃扩张以及静脉 CCK 的刺激后，放电增加，一方面可以直接刺激孤束核内胃扩张相关神经元，引起兴奋效应，另一方面也可以引起孤束核内抑制性中间神经元的兴奋，间接抑制核团中某些神经元的电活动。

CCK-A 受体在迷走神经向中枢神经系统的信息传递过程中发挥了重要作用。Cano 等[8]以中枢内 c-fos 蛋白的表达来反应神经元的活动，发现 CCK-A 受体的激动剂可以引起 NTS 以及最后区（Area Postrema，AP）神经元的活动。而阻断 CCK-A 受体后，c-fos 在 NTS、AP 的表达受到了抑制[9]。这与我们的实验结果是一致的。

CCK 对 NTS 神经元活动的影响并不是通过单一途径而实现的。Zittel 等[10]通过研究 CCK 对摄食的抑制作用发现给予的 CCK 剂量较小时，迷走神经切断可以完全消除 CCK 对摄食的抑制，而 CCK 的剂量较大时，切断迷走神经并不能完全消除 CCK 的作用。说明 CCK 除了作用于迷走神经上的 CCK-A 受体影响中枢神经元的活动，还可以通过其他的途径实现其效应。研究表明外周血液循环中的 CCK 还可以通过直接作用于中枢神经系统的神经元，引起 NTS 中神经元活动的改变。虽然外周血液循环中的 CCK 不能通过血脑屏障，但是在某些脑区如最后区，血脑屏障比较薄弱，不完整，血液中的 CCK 就可以由此进入脑组织[11]。而 AP 区也证明存在 CCK 的 A 受体，而且与 NTS 神经元之间存在单突触联系，因此循环中的 CCK 就可以通过直接作用于 AP 区的 A 受体，间接的影响 NTS 中神经元的活动。Crawley 等[12]也发现外周给予 CCK 可以引起脑脊液中 CCK 的增加，通过直接作用于中枢内的神经元发挥其效应。虽然 CCK 对中枢神经系统的影响是通过多途径实现的，但是生理剂量的 CCK 主要还是通过影响迷走神经传入冲动来发挥其效应的。

（致谢 本研究获得原美国纽约州 Rochester 大学医学中心消化和肝病中心 William Y.Chey 教授及李平教授在药品和技术上的大力支持，在此致以衷心感谢！）

（作者现工作单位：山东省济南市出入境检验检疫局）

参 考 文 献

[1] Ewart WR, Wingate DL. Cholecystokinin octapeptide and gastric mechanoreceptor activity in rat brain [J]. American Journal of Physiology, 1983;244(6):G613-617.

[2] Zhang X, Renehan WE, Fogel R. Neurons in the vagal complex of the rat respond to mechanical and chemical stimulation of the Gl tract [J].American Journal of Physiolog, 1998;274(2):G331-341.

[3] 唐 明，苏海灵，李春林.杏仁核内注射 CCK-8 抑制胃运动机制[J].生理学报，1997;49(5):569-574.

[4] Crawley JN, Schwaber JS.Abolition of the behavioral effects of cholecystokinin following bilateral radiofrequency lesions of the parvocellular subdivision of the nucleus tractus solitarius [J].Brain Research, 1984;295(2):289-299.

[5] Barber WD, Burks TF. Brain stem response to phasic gastric distention [J].American Journal of Physiology, 1983;245(2):G242-248.

[6] Morin MP, de Marchi P, Champagnat J, et al.Inhibitory effect of cholecystokinin octapeptide on neurons in the nucleus tractus solitarius [J]. Brain Research, 1983;265(2):333-338.

[7] Willing AE, Berthoud HR.Gastric distention c-fos expression in catecholaminergic neurons of rat dorsal vagal complex [J].American Journal of Physiology, 1997;272:R59-67.

[8] Cano V, Caicoya E, Ruiz-Gayo M.Effect of peripheral cholecystokinin receptor agonists on c-Fos expression in brain sites mediating food consumption in rats [J].Neuroscience Letters, 2003;343(1):13-16.

[9] Monnikes H, Lauer G, Arnold R. Peripheral administration of cholecystokinin activates c-fos expression in the locus coeruleus/subcoeruleus nucleus, dorsal vagal complex and paraventricular nucleus via capsaicin-sensitive vagal afferents and CCK-A receptors in the rat [J].Brain Research, 1997;770(1-2):277-288.

[10] Zittel TT, Glatzle J, Kreis ME, et al. C-fos protein expression in the nucleus of the solitary tract correlates with cholecystokinin dose injected and food intake in rats [J]. Brain Research, 1999;846(1):1-11.

[11] Ferguson AV, Donevan SD, Papas S, et al.Circument tricular structures: CNS sensors of circulating peptides and autonomic control centers [J]. Endocrinol Exp, 1990;24, 19-27.

[12] Crawley JN, Corwin RL. Biological actions of cholecystokinin [J]. Peptides, 1994;15(4):731-755.