DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.05.021
第22卷第5期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 5
452 2000年5月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE May. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)05-0452-03

# 促肾上腺皮质激素对改进的炎性痛大鼠脑、脊髓内CGRP的影响

徐海伟,李希成,阮怀珍,黎海蒂 (第三军医大学基础医学部生理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 观察腹腔注射促肾上腺皮质激素(ACTH)对改进的完全佐剂性关节炎慢痛大鼠脊髓腰膨大,海马和纹状体内降钙素基因相关肽(Calcitonin gene-related peptide, CGRP)的影响。方法 ①肾上腺摘除术。②CGRP放射免疫法。结果 ①大鼠踝关节周围皮下注射自制的油包水型完全福氏佐剂成功地制备成一种全身反应较轻的慢性疼痛模型。②脊髓腰膨大中的CGRP在关节炎大鼠中升高,腹腔注射ACTH可以抑制关节炎大鼠脊髓腰膨大中CGRP的升高,摘除双侧肾上腺后ACTH的这种抑制作用消失。结论 ACTH通过肾上腺抑制佐剂性关节炎痛敏引起脊髓内CGRP增多而产生镇痛作用。

关键词:ACTH;完全福氏佐剂;关节炎;降钙素基因相关肽
中图法分类号:R684.3;R977.11 文献标识码:A

# Effects of ACTH on CGRP level in the brain and spinal cord in the rats with adjuvant-induced chronic arthritic pains

XU Hai-wei, LI Xi-cheng, Ruan Huai-zhen, LI Hai-di (Department of Physiology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract:** Objective To study the effects of ACTH on the level of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the hippocampus, striatum and lumbar enlargement of the spinal cord of rats with chronic pains induced with modified complete Freund's adjuvant. Methods CGRP level in the nervous tissues was determined with radioimmunoassay. ACTH was injected intraperitoneally into the rats. The rat model of chronic pains was established with subdermic injection of modified complete Freund's adjuvant. Adrenalectomy of the rats was performed. Results The level of CGRP in the lumbar enlargement of the spinal cord was significantly increased in the rats with chronic arthritic pains. Intraperitonel injection of ACTH inhibited the increase of CGRP level and adrenalectomy of the rats attenuated the effects of ACTH. Conclusion ACTH inhibits the increase of CGRP in the lumbar enlargement of the spinal cord in the rats with chronic arthritic pains and the adrenal gland may be involved in the mediation of ACTH induced analgesia.

**Key words:** ACTH; complete Freund's adjuvant; arthritis; calcitonin gene-related peptide

ACTH是一种非阿片肽,在中枢神经系统中参与痛觉调制过程[1,2]。以往关于促肾上腺皮质激素(Adrenocorticotropic hormone, ACTH)对痛觉调制的研究,多采用急性痛模型(大鼠甩尾潜伏期)和亚急性痛模型(大鼠足底皮下注射福尔马林)。慢痛模型常采用完全福氏佐剂(Complete Freund's adjuvant, CFA,水包油型)引起的多发性关节炎,但这种模型动物所出现的严重的全身反应和广泛的病理改变限制了其进一步应用。近来改进为关节周围给药,但模型的痛敏稳定和持续时间较短,不能满足长时间观察的需要[3]。本研究在Butler等[4]使用的动物模型方法基础上,对制剂加以改进,以求制备出一种闰变局限和固定,炎症较轻而关节痛敏稳定的模型。降钙素基因相关肽(Calcitonin gene-related peptide, CGRP)广泛分布于中枢和外周神经系统中。实验证明CGRP与痛觉传递密切相关[5]。为此本实验探讨了CGRP在ACTH对佐剂性关节炎大鼠镇痛功能中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验分组

实验用30只体重200~250 g的Wistar大鼠,雌雄不拘,随机分为4组,每组4~6只,分别为:①正常对照组;②关节炎1 d组;③腹腔注射ACTH+关节炎1 d组;④摘除双侧肾上腺后+腹腔注射ACTH+关节炎1 d组。

作者简介:徐海伟(1972-),男,江苏省江阴市人,助教,主要从事痛觉机制方面的研究。电话:(023)68752254

收稿日期:1999-11-25;修回日期:2000-03-17

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

### 1.2 佐剂配制及慢痛模型制备

将完全福氏佐剂(1 ml 中含 0.4 ml 脱水羊毛脂和 0.6 ml 液体石蜡)和灭活的人型结核杆菌(成都生物制品研究所)分别吸入两个附有 8 号针头的 5 ml 注射器内, 然后用一长 6 cm 的细逆料管连两针头, 交替推动两端针管, 直至形成含结核杆菌 15 mg/ml 的粘稠油包水型乳剂为止。用 0.3%戊巴比妥钠(10 ml/kg 体重)浅麻大鼠, 左侧卧位, 75%酒精将右侧内踝周围皮肤消毒, 从内踝凹陷处将针头刺入皮下, 转向足尖部, 注入含灭活结核杆菌的佐剂 0.15 ml。

### 1.3 大鼠行为学评分

大鼠于注射佐剂前及注射后每周称体重 1 次。佐剂性单关节炎大鼠活动能力减少, 支撑能力减少及关节僵硬度, 足爪回缩的评分方法参照 Coderre 和 Wall[6] 及 Bulter 等[4] 评分法。

### 1.4 CGRP 的放射免疫法测定

CGRP 药盒为北京东亚免疫技术研究所产品。测定方法与以往报道相同[5]。

### 1.5 统计学处理

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 数据以 Student $t$ 检验加以分析。

## 2 结果

### 2.1 改进的佐剂性单关节炎大鼠行为学改变及ACTH的影响

2.1.1 大鼠体重的变化　注射佐剂组大鼠体重增长与对照组相比, 增长速度有所减慢, 但仍能稳定增长, 见图 1。未见体重下降及佐剂性多关节炎所具有的眼结膜炎, 鼻粘膜流血等严重的全身反应。

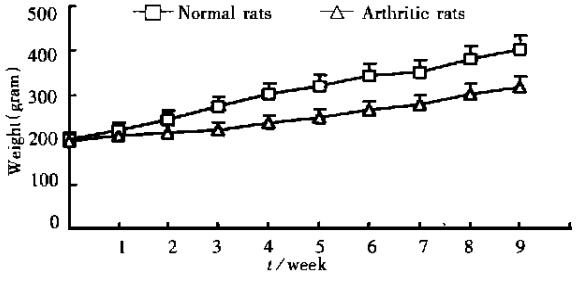



图 1　自制的完全福氏佐剂对大鼠体重的影响($n=4\sim6$)

**Fig 1　Effect of self-made complete Freund's adjuvant on the weight of rats($n=4\sim6$)**

2.1.2 行为学评分　大鼠右踝关节皮下注射含灭活结核杆菌的完全福氏佐剂 0.15 ml 后 2~4 h, 注射部位开始出现红肿, 同时大鼠出现明显的行为学改变, 即活动能力和支撑能力降低, 关节僵硬度和足爪回缩增加。行为学评分和对照组相比有明显差异。24 h 后, 关节炎大鼠关节红肿和行为学评分达到高峰, 并维持 1 周左右, 1 周后大鼠活动能力和支撑能力开始缓慢恢复, 但仍明显低于对照组。9~10 周, 关节炎鼠行为学评分恢复正常, 见图 2, 3。

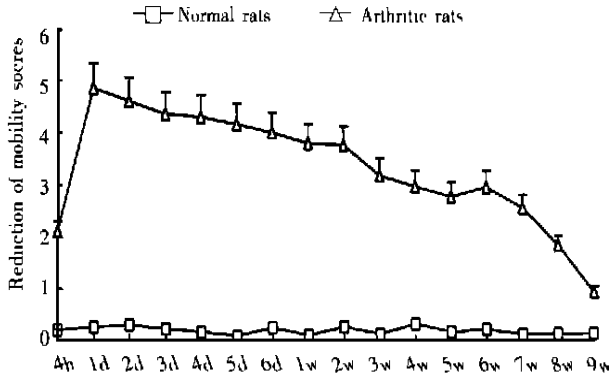



图 2　关节炎大鼠活动力减少评分($n=4\sim6$)

**Fig 2　Reduction of mobility scores of arthritic rats($n=4\sim6$)**

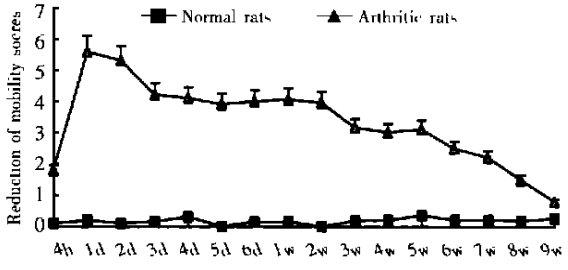



图 3　关节炎大鼠支撑力减少评分($n=4\sim6$)

**Fig 3　Reduction of withdrawal scores of arthritic rats($n=4\sim6$)**

2.1.3 ACTH 的影响　关节炎大鼠行为学评分达到高峰前 2 h, 腹腔注射 ACTH(25 IU/kg 体重), 2 h 后给药组关节炎大鼠的活动能力和支撑能力均较关节组明显升高, 但关节僵硬度和足爪回缩度较关节炎组无明显改变。ACTH(24 IU/kg)+Arthritis 1 d+ADX 组和 ACTH(25 IU/kg)+Arthritis 1 d 组相比, 行为学评分差异不显著, 见表 1。

表 1　关节炎大鼠痛行为学评分表

**Tab 1　Pain behavior scores of arthritic rats**

| | RMS | RWS | SJ | RT |
|---|---|---|---|---|
| Control | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Arthritis 1 d | 4.8 ** | 5.4 ** | 3.0 * | 2.4 * |
| ACTH(25 IU/kg)+Arthritis 1 d | 3.4 + | 2.8 ++ | 3.2 | 2.4 |
| ACTH(25 IU/kg)+Arthritis 1 d+ADX | 4.2 | 4.8 | 3.2 | 2.8 |

RMS: reduction of mobility score; RWS: reduction of withdrawal score; SJ: stiffness of joint; RT: restriction of toes; ADX: adrenalectomy; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control; +: $P<0.05$, ++: $P<0.01$ *vs* Arthritis 1 d

### 2.2 大鼠脊髓腰膨大, 纹状体和海马内 CGRP 水平的变化

大鼠注射佐剂后 24 h 后测脊髓腰膨大, 双侧纹状体和双侧海马内的 CGRP 水平。和对照组相比, 脊髓腰膨大中的 CGRP 升高了 294.2%($P<0.01$), 而双侧纹状体中的 CGRP 降低

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

49.6%（$P<0.05$），双侧海马中的CGRP无明显变化。大鼠注射佐剂后，腹腔注射ACTH，2 h后脊髓腰膨大中的CGRP较关节炎组下降了74.8%（$P<0.01$），纹状体和海马中的CGRP变化不明显。摘除双侧肾上腺的关节炎大鼠，腹腔注射ACTH治疗后，上述三部位的CGRP和ACTH＋关节炎组相比，变化均不明显，见表2。

表2 关节炎大鼠脊髓腰膨大、海马和纹状体中CGRP含量（pg/mg）

Tab 2 CGRP level in the lumber enlargement of spinal cord, hippocampus and striatum of arthritic rats（pg/mg）

| | Lumber enlargement of spinal cord | Hippocampus | Striatum |
|---|---|---|---|
| Control | 5.65±0.57 | 11.18±2.30 | 11.03±1.68 |
| Arthritis 1 d | 22.26±4.71 ** | 7.01±2.81 | 5.56±1.67 * |
| ACTH（25 IU/kg）＋Arthritis 1 d | 5.60±1.22 ++ | 9.57±1.53 | 10.21±2.84 |
| ACTH（25 IUkg）＋Arthritis 1 d＋ADX | 14.08±4.69 B | 8.96±1.07 | 10.51±1.78 |

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* control；++：$P<0.01$ *vs* Arthritis 1 d；B：$P<0.05$ *vs* ACTH（25 IU/kg）＋Arthritis 1 d

## 3 讨论

采用踝关节皮下注射自制的含灭活结核杆菌的完全福氏佐剂（油包水型），能够造成大鼠的单关节炎，它可以作为一种稳定的慢痛动物模型。和传统的关节炎慢痛模型，如关节腔内或足底注射水包油型完全佐剂引起的多关节炎大鼠相比[7]，该模型采用踝关节内侧皮下注射，且改进了佐剂的制备方法，制成粘稠的油包水型佐剂，这种模型大鼠全身状态良好，病变局限，大鼠体重能稳定增长。注药侧踝关节在注药后2～4 h即开始出现急性红肿，并伴有明显的痛行为，并能稳定长达9周，说明大鼠存在稳定而持久的关节痛敏。这些特点可能与采用油包水型完全福氏佐剂有关，和水包油型佐剂相比，它在体内扩散较慢，其作用部位局限，全身状态良好。而皮下注射又可以避免关节腔内后引起的关节僵直，从而影响对痛行为的观察。

CGRP是一种神经肽，有人推测内源性CGRP与痛觉传递密切相关[8]。本实验中关节炎大鼠脊髓腰膨大中CGRP的含量明显升高，而海马和纹状体中CGRP含量变化不明显。持续痛刺激的存在可以使痛觉初级中枢的CGRP含量升高。本实验结果显示，CGRP可以作为一种伤害性信息的指标。

ACTH因不同的给药方式及剂量大小不同可引起镇痛或拮抗镇痛的作用[1,2]。一般认为，鞘内给于小剂量ACTH（15.6～250 ng，0.5 IU/10 μl）即可剂量依赖性抑制羟甲芬太尼的镇痛效应，在脑内，ACTH与其受体结合后，能抑制吗啡，β-内啡肽（Endorphin）引起的镇痛，表明ACTH具有脑的直接作用。而腹腔注射较大剂量ACTH（25 IU/kg）及鞘内注射ACTH（1 IU/10 μl）[9]均能在福尔马林引起的大鼠疼痛模型上产生较为确定的镇痛效果[10]。在本实验中采用胜利腔注射较大剂量ACTH也对关节炎大鼠的活动能力及支撑能力有较明显的改善作用，并能降低关节炎大鼠脊髓的CGRP水平，揭示ACTH对关节炎大鼠的镇痛作用，部分是通过降低脊髓的CGRP而实现的。摘除大鼠双侧肾上腺后，ACTH的镇痛作用和未摘除肾上腺的关节炎大鼠相比变得不明显，可见ACTH的镇痛作用须通过肾上腺。

参考文献：


[1] 马晓松，张桂林. 促肾上腺皮质激素对大鼠脊髓背角神经元伤害性放电的影响[J]. 中国应用生理杂志，1993，9(3)：282－286.

[2] 李显喜，方 圆，韩济生. 脑室注射ACTH对抗羟甲芬太尼引起的镇痛[J]. 中国药理学通报，1996，12(3)：221－224.

[3] 刘红香，许 伟，罗 非，等. 改进的大鼠单发佐剂性关节炎模型的建立和实验观察[J]. 中国疼痛医学杂志，1996，2(4)：223－227.

[4] Butler S H，Godefroy F，Besson J M，*et al*. A limited arthritic model for chronic pain studies in the rat[J]. Pain，1992，48(1)：73－81.

[5] 阮怀珍，李希成. 吗啡及单胺类递质对脊髓内P物质痛觉调制作用的影响[J]. 科学通报，1990，35(18)：1 428－1 432.

[6] Coderre T J，P D Wall. Ankle joint arthritis（AJUA）in rats：an alternative animal model of arthritis to that produced by Freud′s adjuvant[J]. Pain，1987，28(3)：379－393.

[7] Reiber H，suckling A J，Rumsby M G. The effect of Freund′s adjuvant on blood-cerebrospinal fluid barrier permeability[J]. J Neurosci，1984，63(2)：55－61.

[8] Christensen M D，Hulsebosch C E. Spinal cord injury and anti-NGF treatment results in changes in CGRP density and distribution in the dorsal horn im the rat[J]. Exp Neurol，1997，147(2)：463－475.

[9] 李希成，黎海蒂，赵邦云，等. 腹腔和脑室注射促肾上腺皮质激素对大鼠不同脑区5-羟色胺含量的影响[J]. 生理学报，1987，39(3)：227－234.

[10] Hendrle C A. ACTH：a single pretreatment enhances the analgesic efficacy of and prevents the development of tolerance to morphine[J]. Physio Behav，1988，42(1)：41－45.


（编辑 薛国文）

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