

“足三里”- 脊髓背角 - 孤束核的机能联系

孟 卓* 吕国蔚

(首都医学院神经生物学研究室, 北京 100054)

摘 要

在戊巴比妥钠麻醉的大鼠上,应用电刺激足三里穴(ZSL)和孤束核(SN)及脊髓背角 III—V 板层微电极细胞内记录技术,发现并鉴定了 57 个对 ZSL 和 SN 电刺激均有反应的脊髓神经元。其中 34 个可被 SN 逆向激动,其余对 SN 发生突触反应。所有神经元对 ZSL 刺激均发生顺向反应, LTM 型和 WDR 神经元约各占一半。结果提示: (1) 同一个脊髓背角神经元可接受来自 ZSL 的躯体传入信息,并将其传递给内脏感觉核团——SN; (2) 脊髓背角神经元也可接受 SN 的下行神经支配; (3) 躯体传入与内脏传入两种信息可在脊髓背角神经元或 SN 内汇聚和整合。

关键词: 脊髓背角, 足三里穴, 孤束核, 逆向反应, 顺向反应

脊髓背角作为感觉末梢向中枢传入的一级终止区域,也是躯体、内脏等传入冲动相互作用的部位,已日益引起神经科学者的极大兴趣。中医理论的经穴脏腑相关学说提出的躯体和内脏传入在神经系统内汇聚的问题,近年来也已引起人们的注意。足三里穴(ZSL)是足阳明胃经的重要穴位,针刺该穴对消化系统的疾病有治疗作用。孤束核(SN)是内脏传入的主要终止核团,大部分消化道的感觉传到此核。阐明 ZSL 和 SN 之间的联系既可为躯体内脏相关理论提供实验依据,也可为针刺原理研究提供有益资料。因此,本工作以 ZSL 为躯体传入的代表穴位,以 SN 为内脏传入的代表核团,以脊髓背角为上述两者的中间枢纽,用逆、顺向电刺激和微电极在体细胞内记录的方法,对背角神经元在躯体内脏相关中的作用进行研究,旨在探讨来自躯体穴位和内脏器官的两种感觉传入在中枢水平的汇聚以及背角神经元本身在这一汇聚中的机能意义。

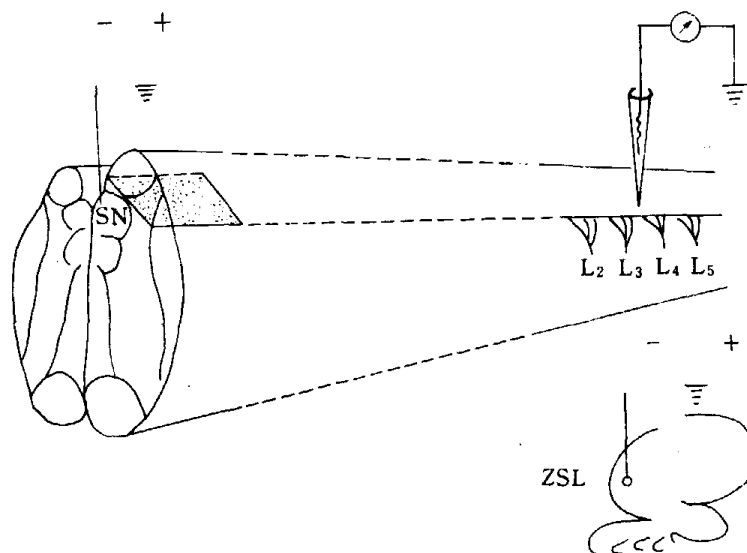
一、方 法

实验用成年 Wistar 大鼠 27 只,体重 240—280 g,雌雄不拘。用异戊巴比妥钠(40 mg/kg, IP)麻醉。做气管插管,用氯化筒箭毒(2 mg/kg, IP)制动,做双侧人工气胸,以减少因呼吸运动而致的脊髓浮动。用双侧耳棒及门齿夹将大鼠头部固定于定位仪上,并用脊髓夹在腰部记录部位的头、尾侧,以固定脊髓。除去部分枕骨,将小脑推向吻侧,暴露延髓下部。根据

本文 1991 年 4 月 15 日收到, 1991 年 9 月 10 日收到修改稿。

* 现工作单位: 中国中医研究院针灸研究所, 北京 100407。

Pellegrion^[1] 大鼠脑定位图谱, 用尖端裸露直径 0.07 mm, 四周绝缘的单极刺激电极(负), 于门部头端 0.8 mm, 中线旁开 0.6 mm 处刺入左侧 SN 内, 深约 0.25 mm; 并于 SN 外侧置入一长约 3 mm 的薄云母片, 深约 2 mm, 以防止刺激电流扩散至其它核团. 无关电极(正)置于颈部肌肉内. 将一单极(负)刺激电极刺入左后肢 ZSL 内; 无关电极(正)置入邻近肌肉(图 1). 切除部分腰椎椎板, 暴露 L_3 — L_6 节段并剥离硬脊膜.



(图中给出左侧 SN 和 ZSL 内刺激电极以及腰髓背角记录微电极的位置.

图中阴影示置入 SN 外侧的薄云母片)

记录用玻璃微电极直径在 0.5—1 μm 之间, 内充 3 mol/L 氯化钾溶液, 阻抗 20—40 M Ω , 沿左侧脊神经根丝内缘刺入背角, 无关电极置于同侧椎旁肌. 由记录电极引导出的电信号经微电极放大器至记忆示波器显示, 并用磁带记录仪记录有关反应, 必要时拍片. 刺激器经隔离器对左侧 SN 和左侧 ZSL 交替地施以强度 1 mA, 频率 1 Hz, 波宽 0.3 ms, 脉冲间隔 3 ms 的方波双脉冲刺激. 在 L_3 — L_6 同侧脊髓表面下 1.3 mm 的背角范围内, 进行细胞内记录, 寻找可被 SN 逆向刺激和 ZSL 顺向刺激所激动的神经元. 按逆向反应标准^[2-4] 鉴定对 SN 刺激发生反应的神经元. 对符合逆向反应标准或虽不符合逆向反应标准但仍可被 SN 和 ZSL 刺激所激动的神经元, 分别测定其逆、顺向刺激和阈值(T)、不应期和潜伏期. 阈值的测定是以双脉冲刺激所引起的两个诱发反应均开始出现时所施电刺激强度为准; 不应期和潜伏期的测定是在两倍阈刺激强度(2T)的基出上进行. 在确定对 SN 刺激发生逆向反应的神经元后, 分别以 10T 和 50T 强度刺激同侧 ZSL, 鉴定其外周传入纤维的类别^[5], 用刷毛、无齿镊夹和有齿镊夹等分别造成触、压、痛的自然刺激, 测定其外周感受野的范围和生理类型^[6]. 再以 ZSL 顺向刺激为条件刺激, SN 逆向刺激为检验刺激, 逐步缩短两者之间的刺激间隔, 观察顺向刺激对逆向反应的影响.

实验过程中, 动物的所有暴露部位均覆以温石蜡油, 直肠体温维持在 37—38 $^{\circ}\text{C}$, 通过心电图监测动物状态. 实验结束时以棉线分别测量记录部位与 SN 和 ZSL 间的距离, 分别除以各自的潜伏期, 计算传导速度. 实验后重放磁带记录, 用 X-Y 记录仪描记. 最后, 将有关数据分别输入计算机内做统计学处理. 根据本室以前的工作, 有关刺激电极 SN 的位置和记录电极在脊髓内的深度, 均做了相应的形态学检验^[7].

二、结 果

经形态学检验,所有实验动物的刺激电极均在 SN 范围内;记录电极微推进器的深度读数(Y)与潘胺天蓝的相应深度标记点(X)间高度相关($r=0.996$, $p<0.001$),并呈线性关系($Y=13.491+0.958X$)。

本实验在细胞内记录的基础上共记录到 57 个对 SN 逆向刺激和 ZSL 顺向刺激发生反应的神经元(图 2(a),(b))。其中,34 个神经元对 SN 刺激的反应完全符合逆向反应标准;其余 23 个神经元的反应属突触反应。这两类神经元在腰髓背角的分布未见差异,均主要分布于 III—V 板层,偶见于 II, VI 板层。

1. 刺激 SN 引起的逆向反应

SN 逆向刺激引起的动作电位具有后超极化(图 2(a),(c))。静息膜电位小于 -40 mV 时,锋电位的上升幅度可达 $50-60$ mV,持续时间为 $1.4-2.3$ ms。逆向反应的潜伏期恒定,阈值敏锐,可跟随间隔 3 ms 的 50 Hz 双脉冲刺激(图 2(d)),可被自发放电及感受野刺激引起的诱发反应碰撞。其阈值范围在 $0.1-1.0$ mA 之间,平均 0.37 ± 0.12 mA(均值 $\pm$ 标准误,以下均同此);不应期 $0.1-1.3$ ms,平均 0.72 ± 0.07 ms;潜伏期 $3.5-6.5$ ms,平均 5.14 ± 0.17 ms。传导速度 $11.2-24.9$ m/s,平均 15.21 ± 0.23 m/s。

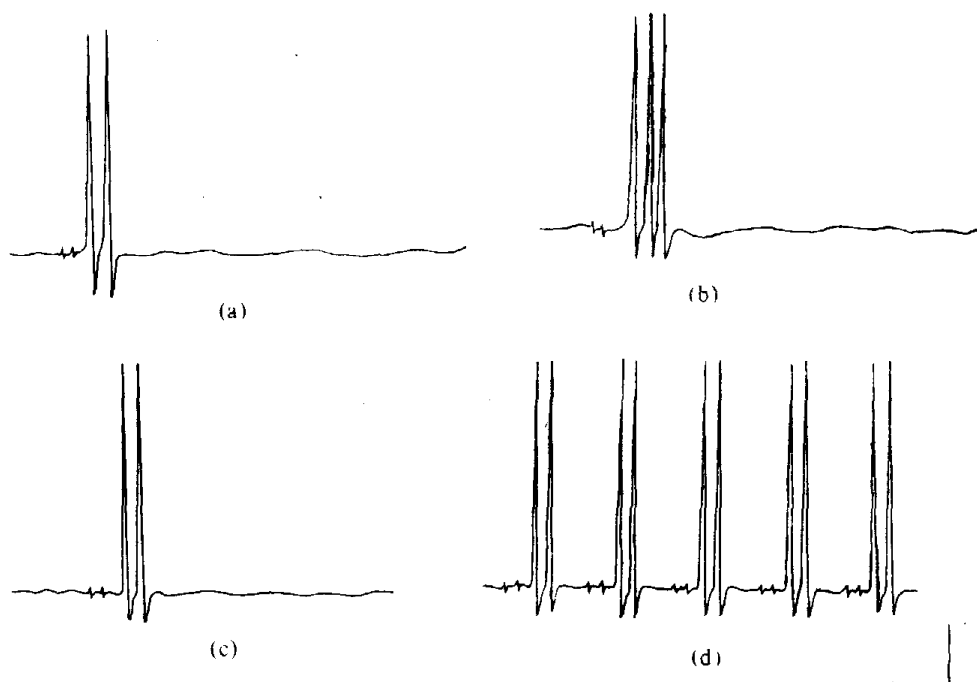


图 2 同一脊髓背角神经元对 SN 双脉冲逆向刺激(a)和 ZSL 双脉冲顺向刺激(b)的反应;
SN 刺激引起的逆向反应锋电位(c)能跟随间隔 3 ms 50 Hz 双脉冲刺激(d)
(锋电位前基线上的两个小波动为刺激伪迹,以下各图同此。校正: 10 ms, 15 mV)

2. 刺激 SN 引起的突触反应

此类反应虽仍具有与上述逆向反应细胞内记录相似的波形特征(图 3(a)),但不能跟随高频刺激(图 3(b)),不能被外周顺向刺激或自发反应所碰撞,亦不具有其它逆向反应的特点,故为突触反应。其阈值是 $0.1-1.7$ mA,平均 0.71 ± 0.4 mA;不应期 $0.3-1.4$ ms,平均 0.82 ± 0.06 ms;

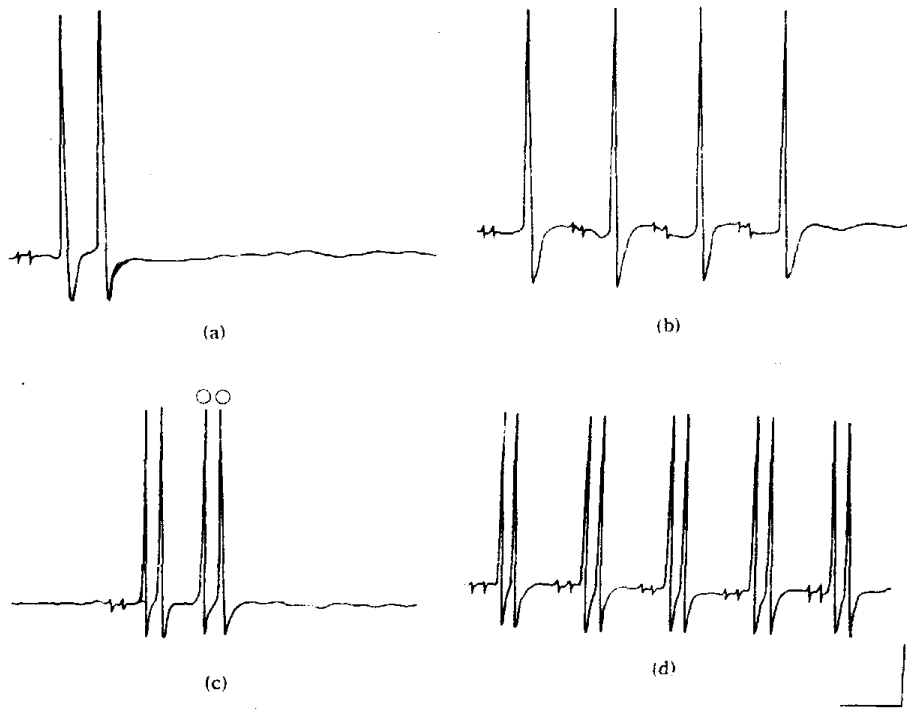


图3 脊髓背角神经元对SN电刺激的突触反应(a)不能跟随间隔3ms的50Hz双脉冲刺激(b); 同一脊髓背角神经元对SN刺激发生逆向反应后出现的反应(标有o者)(c),在间隔3ms·50Hz双脉冲刺激下消失(d)

(校正: (a),(b): 10 ms, 15 mV; (c),(d): 10 ms, 20 mV)

潜伏期 6.0—18.2ms, 平均 10.14 ± 0.58 ms. 按单突触延搁时间 0.5 ms 校正后的潜伏期除传导距离所得的传导速度为 5.7—12.5m/s, 均值 7.9 ± 0.38 m/s. 部分突触反应潜伏期短, 上升快(图 3(a)), 可能是单突触反应. 另一部分反应潜伏期较长, 高频刺激下明显抑制(图 3(c), (d)), 可能是多突触反应. 34 例对 SN 刺激发生逆向反应的神经元中, 有 6 例在逆向反应之后还出现一或数个反应(图 3(c)), 不能跟随高频刺激(图 3(d)), 看来亦属突触反应.

比较逆向反应和突触反应的平均阈值, 后者是前者的 2 倍. 统计分析表明, 两者既无显著性差异也无相关关系. 突触反应的传导速度明显慢于逆向反应的传导速度, 仅为后者的 1/2. 两者间有非常显著的差异($t=7.897$, $p<0.001$), 但无相关关系. 在同一神经元中出现的逆向反应和突触反应, 后者潜伏期平均长于前者 3—4 倍, 传导速度也相应地慢于前者. 统计处理表明, 两者的传导速度有非常显著的差异($t=5.621$, $p<0.01$), 而无相关关系.

3. 刺激 ZSL 引起的顺向反应

电刺激 ZSL 也可以诱发细胞内记录的典型锋电位(图 2(b), 图 4), 有些发生多重放电反应, 但均不能跟随高频刺激, 也不具有其它逆向反应特征, 因而是经突触引起的顺向反应. 其中一些反应具有潜伏期短、上升时间短等单突触反应特征, 另一部分为多突触反应.

SN 刺激引起逆向反应的神经元, 对 ZSL 刺激的顺向反应阈值是 0.1—1.0mA, 平均 0.49 ± 0.12 mA; 不应期 0.1—2.0ms, 平均 0.76 ± 0.05 ms; 潜伏期 3.0—15.0ms, 平均 8.76 ± 0.82 ms; 按单突触延搁矫正后的传导速度为 1.9—38.0 m/s, 平均 14.77 ± 2.01 m/s. SN 刺激引起突触反应的神经元, 对 ZSL 刺激的顺向反应阈值为 0.12—1.23 mA, 平均 0.46 ± 0.08 mA;

不应期 0.1—2.0 ms, 平均 0.52 ± 0.18 ms; 潜伏期 2.5—19.5 ms, 平均 9.56 ± 0.36 ms; 按单突触延搁矫正后的传导速度为 5.8—38.0 m/s, 平均 13.07 ± 0.27 ms.

比较 SN 逆向反应与 ZSL 顺向反应的平均阈值, 后者略高于前者, 平均传导速度后者相应慢于前者, 符合阈值与传导速度成反比的关系^[8, 9], 但两者相差不大, 既无显著差异又无相关. 比较刺激 SN 引起的突触反应与 ZSL 顺向反应的阈值, 后者低于前者, 但无显著差异和相关, ZSL 顺向反应传导速度显著快于 SN 突触反应 ($t=2.612$, $p<0.05$), 仍无相关关系. 在对 SN 刺激发生逆向反应的神经元中, 当 ZSL 和 SN 的刺激间隔缩短至 40—30 ms 时, SN 的逆向反应因 ZSL 顺向反应的碰撞而脱失或移位(图 4).

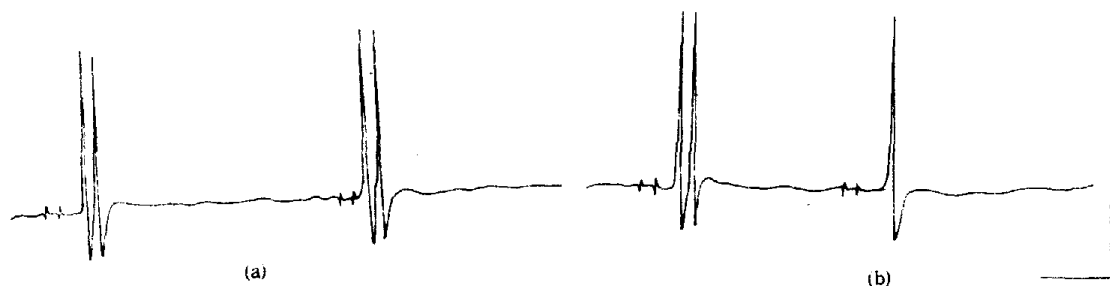


图 4 左侧为 ZSL 刺激引起的顺向反应, 右侧为 SN 刺激引起的逆向反应(a); 缩短 ZSL 和 SN 的刺激间隔时, SN 的逆向刺激引起的一个反应被碰掉(b)
(校正: 20 ms, 30 mV)

4. 电刺激 ZSL 和自然刺激感受野引起的反应

29 例对 SN 刺激发生逆向反应的神经元对 10T 和 50T 电刺激 ZSL 大多发生反应. 其中 14 例对 10T 和 50T 发生类似的反应, 放电数目基本相同, 潜伏期也无明显区别. 9 例对 50T 刺激的反应明显强于 10T, 放电数目显著增加. 其余 6 例当刺激强度由 10T 增到 50T 时, 出现潜伏期缩短(图 5).

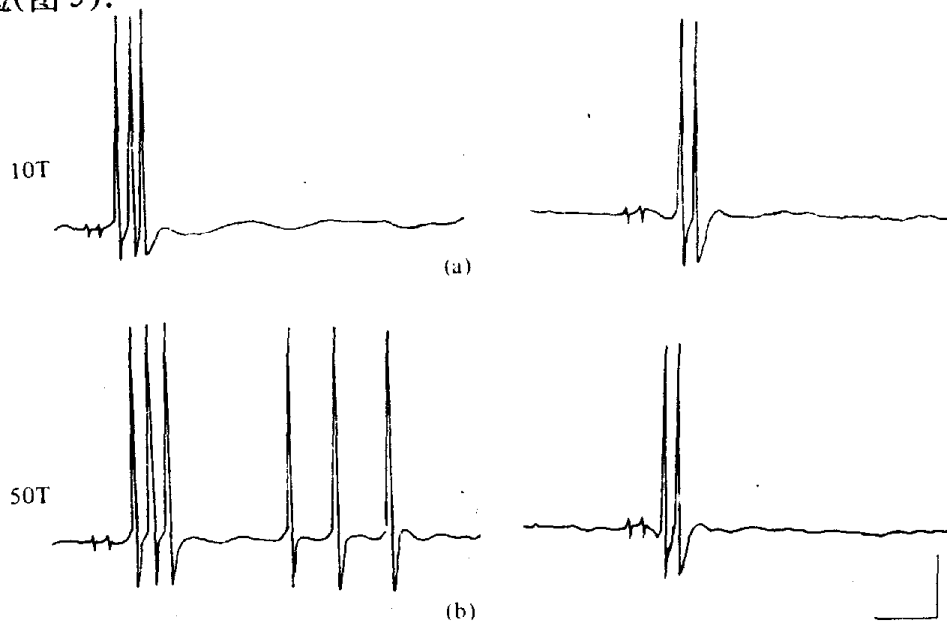


图 5 脊髓背角神经元对 ZSL 50T 刺激的反应明显强于 10T 刺激, 表现为放电数目有所增加(a)左, (b)左; 当刺激强度由 10T 增至 50T 时, 潜伏期缩短(a)右, (b)右
(校正: 10 ms, 20 mV)

逆向反应神经元的感受野大多分布在足底、足背、小腿外侧、膝关节前、大腿内侧及臀部,范围较局限,直径不超过 2cm. 其中 15 例只对刷毛和无齿镊夹有反应,属低阈机械感受型神经元(LTM);其余 12 例对刷毛、无齿镊夹和有齿镊夹均有反应,属广动力范围型(WDR)神经元(图 6);但未见仅对有齿镊夹有反应的伤害特异性(NS)神经元. 多数 LTM 型神经元对 ZSL 的 10T, 50T 刺激发生类似的反应,而几乎所有的 WDR 型神经元对 50T 刺激的反应均强于对 10T 的反应.

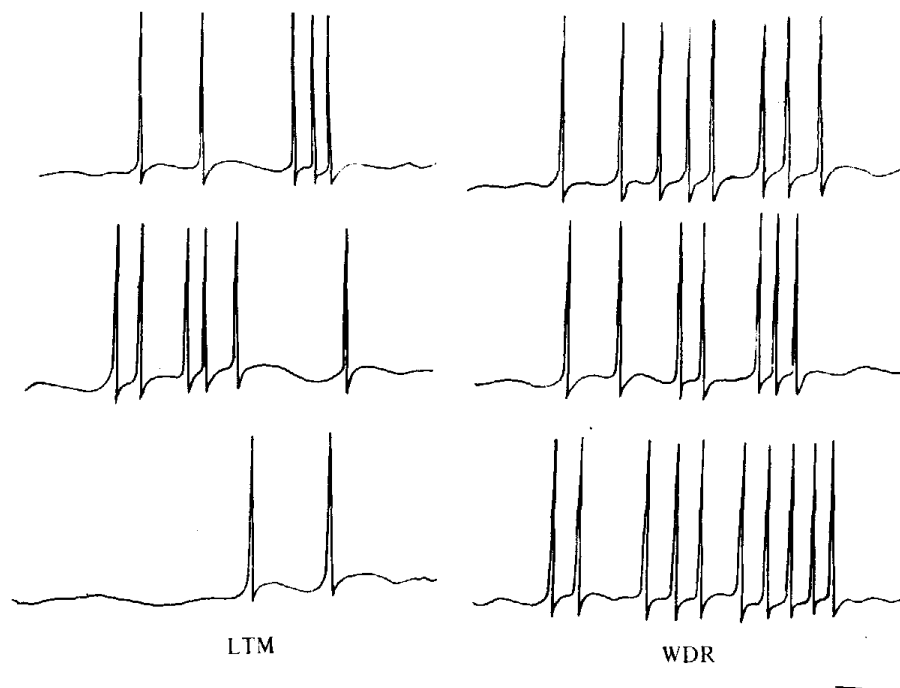


图 6 脊髓背角神经元对感受野自然刺激的反应

(左、右图中自上而下分别为对刷毛、无齿镊夹和有齿镊夹的反应,校正: 10 ms, 20 mV)

三、讨 论

对 SN 刺激和 ZSL 刺激分别产生逆向反应和顺向反应的神经元,可接受来自 ZSL 的外周躯体传入,同时发出至内脏感觉核团 SN 的直接上行投射,它们的胞体主要位于背角 III—V 板层. 一般认为,背角的 III, IV 板层多接受来自躯体的 A β 纤维传入^[10],而 IV 板层主要接受内脏感觉的输入^[11]. 由此推论,上述神经元可能与多种类型的感觉传递有关^[12]. 尤其值得提出的是,同一个脊髓背角神经元既可接受来自 ZSL 的躯体传入信息,又可向内脏感觉核团——SN 发出直接投射,这显然是在 ZSL 和 SN 间架起了信息传递的桥梁,同时也提供了由躯体传入至内脏感觉的路径,即 ZSL 穴(躯体)-脊髓背角(DH)神经元-SN(内脏)核通路,这是迄今未曾见到报道的. 这一联系有别于两种感觉终末在某一区域的简单重叠,而是躯体、内脏传入汇聚的一种新的,更为复杂的类型,其在躯体和内脏传入的汇聚及整合中的作用值得进一步探讨.

某些背角神经元在对 SN 刺激发生逆向反应后又出现突触反应,提示 SN 对背角有下行神经支配. SN 与背角投射神经元间的这种下行联系,有可能形成一个反馈环路,从而使背角神经元的上行投射通路的调节更加精细;同时上述背角神经元本身亦可能汇聚经 SN 来的内脏传入信息和来自 ZSL 的躯体传入信息. 对 SN 刺激发生逆向反应的神经元,对 ZSL 的 10T,

50T 刺激发生类似反应的事实,提示这些神经元主要接受 ZSL 的 $A\beta$ 传入;而对 50T 刺激的反应明显强于 10T 者,则除接受 $A\beta$ 传入外,还接受 $A\delta$ 传入。神经元感受野的自然刺激分型,也得到类似结果。LTM 神经元主要接受 $A\beta$ 纤维传入,这与其对 10T 和 50T 刺激发生类似反应是一致的;而 WDR 神经元除接受 $A\beta$ 传入外,也接受 $A\delta$ 传入,因此其对 50T 的反应明显强于对 10T 的反应^[13]。一般认为,几乎所有的脊髓投射神经元都主要接受 $A\beta$ 传入^[14, 15],本工作支持这一论点,同时也看到某些神经元,主要是 WDR 型神经元,也接受 $A\delta$ 传入的事实^[16]。与我们先前的工作^[17]一致,本工作也表明 ZSL 的传入神经中除 $A\beta$ 纤维外,也含有部分 $A\delta$ 纤维。

有些背角神经元对 SN 刺激只产生突触反应,表明其不向 SN 发出上行投射,而只是接受 SN 的下行神经支配,提示其为背角中间神经元,它既接受来自 SN 的下行神经支配,又接受来自 ZSL 的外周传入性输入。它们在躯体和内脏传入的中枢汇聚中起何作用,值得深入探讨。另外,SN 除接受来自内脏的信息外,还通过 ZSL-DH-SN 通路接受来自躯体的信息,从而提出 SN 如何处理这两类不同信息的问题。从本工作和我们已有的工作看来,躯体和内脏两种信息既可在脊髓背角细胞上^[18],也可在 SN 核团内发生汇聚和整合。有关机理的进一步研究既有助于阐明躯体内脏相关理论,也为牵涉痛的发病机制和针刺镇痛的原理提供实验依据。

参 考 文 献

- [1] Pellegrino, L.J. et al., *A stereotaxic Atlas of the Rat Brain*, 2nd Ed., Plenum Press, New York, 1979.
- [2] Lu, G.W. et al., *Exp. Neurol.*, **87**(1985), 571.
- [3] Anderson, M.E. & Yoshida, M., *J. Neurophysiol.*, **45**(1980), 883.
- [4] Sakuma, Y. & Pfaff, D.W., *ibid.*, **47**(1982), 292.
- [5] Perl, E.R., *J. Physiol.*, **164**(1962), 430.
- [6] 吕国蔚, 生理科学进展, **17**(1986), 302.
- [7] 吕国蔚等, 中国科学 B 辑, 1990, 8: 838.
- [8] Rushton, W.A.N., *J. Physiol.*, **115**(1951), 101.
- [9] Li, C.L. & Bak, A., *Exp. Neurol.*, **50**(1976), 67.
- [10] Lamotte, C., *Comp. Neurol.*, **172**(1977), 529.
- [11] Wilson, M.E., *Anesth.*, **29**(1974), 407.
- [12] 孟 卓, 神经解剖学杂志, **2**(1986), 141.
- [13] 陈宜张, 神经系统电生理学, 人民卫生出版社, 北京, 1983, 16.
- [14] Lu, G.W. et al., *Exp. Neurol.*, **82**(1983), 456.
- [15] 梅 俊, 生理学报, **38**(1986), 4.
- [16] 李菁锦、吕国蔚, 中国科学 B 辑, 1988, 11: 1181.
- [17] Lu, G.W., *Am. J. Physiol.*, **245**(1983), R606.
- [18] 李菁锦、吕国蔚, 科学通报, 待发表.