

束缚应激引起的神经生物学变化与镇痛的联系

吴舟桥^{1,2}, 张靖¹, 周玲琳^{1,3}, 李会莉^{4*}, 孙中生^{1*}

(1. 中国科学院心理研究所行为遗传学中心, 北京 100101; 2. 北京大学医学部 85 号信箱, 北京 100191;

3. 温州医学院学院路校区基因组医学研究院, 温州 325027; 4. 第四军医大学人体解剖与组织胚胎学教研室, 西安 710032)

【关键词】 束缚应激; 镇痛; HPA 轴

应激状态下, 机体的适应性行为由神经、免疫、内分泌以及其他多系统共同参与调节, 机体通过适当地调节体内各系统的代谢变化从而有效的应对应激对机体造成的影响。大多数研究认为下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA 轴) 在机体的应激反应中起到核心作用, 而其作用又通过同其它各系统之间的交互作用得以实现。束缚应激可通过改变 HPA 轴以及其它系统的代谢活性从而在行为学上产生“镇痛”现象。本文主要从中枢神经系统和神经内分泌等方面综述在束缚应激状态下镇痛作用的发生机制, 同时也初步探讨应激导致的基因表达的改变与镇痛之间的联系。

1 应激与痛觉

应激是指机体对各种刺激产生的非特异性反应。该现象普遍存在于人们日常生活和工作之中, 并且影响着机体各个系统的功能。就神经系统而言, 某些急性应激可以导致焦虑和失眠; 如果处于长期应激状态, 还可导致抑郁症发生^[1]。此外, 大量临床报道显示, 循环系统、免疫系统以及消化系统等多方面的疾病也与应激有着密切的联系^[2]。

痛觉是人类以及其他动物在日常生活的一种感受, 国际疼痛研究学会 (IASP) 将“疼痛”定义为: 与实际的或者潜在的组织损伤相关, 或者可以用组织损伤描述的不愉快的感觉和情绪上的一种体验 (an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage or described in terms of such damage)。在多数情况下, 痛觉 (特别是急性痛) 是一种保护机体的预警机制: 它能够引起机体产生习惯性逃避反应, 减轻痛觉的产生, 从而避免或减少外在的伤害性刺激对机体的伤害作用^[3]。

应激对于疼痛反应有着显著影响, 无论是在动物模型还是在人群实验中, 疼痛阈值上升, 即镇痛 (analgesia) 效应的产生是在应激状态下最常被观察到的行为学变化之一^[4]。在对行为学现象的观察过程中, 我们自然会引申出以下问题:

(1) 应激改变痛觉感受在人类和动物中有哪些表现, 如何确定应激和痛觉改变之间的关系? (2) 体内哪些物质参与这种改变的过程, 它们依赖何种机制? (3) 应激导致痛觉改变的生物学意义是什么? 本文主要综述了在动物束缚应激模型中, 机体内一些疼痛相关物质的代谢改变及其影响痛觉感受的机制, 并进一步探讨在束缚应激状态下各种疼痛相关物质之间的生物学联系。

2 束缚应激模型

人类群体中, 一些“主体无法控制”的应激刺激往往能够产生明显的镇痛效果。束缚应激模型通过限制动物躯体运动较好地模拟了人类生活中“无法控制”的拥挤、环境嘈杂、挫折等生活状态, 进而可诱导产生挣扎、急躁、愤怒、抑郁、绝望等心理及行为变化^[4]。

束缚应激可根据束缚时间长短的不同分为急性 (acute) 束缚和慢性 (chronic) 束缚。急性束缚一般仅给予一次束缚刺激, 且持续时间相对较短 (0.5, 1, 5 h 等)。慢性束缚则连续几日重复进行束缚, 束缚天数在不同实验中各不相同。重复束缚应激与单次束缚应激在行为学和分子代谢上往往造成不同的改变, 例如重复束缚应激会引发痛敏 (hyperalgesia) 现象而单次束缚则引起镇痛效应^[5]。此外, 无论是在 von Frey 纤维实验 (von Frey filaments test)、热板实验 (hot plate test)、甩尾实验 (tail immersion test) 中, 或是在福尔马林测试 (formalin test), 束缚应激 (尤其是急性束缚应激) 均会引起痛觉阈值上升^[6-8]。

3 束缚应激的神经生物学基础

束缚应激之后动物在行为学水平导致的变化源于束缚过程中机体内代谢的改变。因此, 在束缚应激导致镇痛的生物学机制的研究中, 人们将研究目标锁定在束缚应激后机体内各类物质 (例如神经递质、激素以及基因等) 的特异性改变上。但我们也应当同时注意到这些改变的复杂性 - 多种物

基金项目: 国家自然科学基金 (30500154); 中国科学院心理研究所本科生科研基金

* 通讯作者: 孙中生 电话: 010-80495085, Email: sunzs@psych.ac.cn; 李会莉 电话: 029-84774504, Email: lihuili@fmmu.edu.cn

质之间通过相互影响构成调控网络,整个网络内各部分功能的协同变化最终导致了动物在行为学上的改变。

3.1 下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴) HPA轴的激活是按照一定顺序通过上游激素激活下游激素逐步将其生物学效应级联放大的。各种激素在HPA轴中位置不同,导致其被激活的时间不同,因此达到体内最高浓度的时间顺序也不同。这得到了多项研究结果的支持:单次束缚可以在全身多处组织、脑内核团以及血浆内提高促肾上腺皮质激素释放激素(CRH),促肾上腺皮质激素(ACTH)以及皮质酮(corticosterone)等的浓度^[9-12]。从束缚应激开始,ACTH血浆浓度在束缚30 min以后已达最高^[13],而皮质酮水平在应激开始15 min后才开始上升,在1 h时达到最高浓度,其浓度可达正常水平的5倍之多^[10]。

但是,正如重复应激与单次应激在行为学上的表现存在很大差异,对于HPA轴的活性而言,重复束缚应激的正向激活作用似乎并不显著。血浆ACTH水平在单次束缚后明显升高,而在重复束缚后却没有这种现象^[11]。重复束缚后,在海马所有区域内糖皮质激素受体(GR)mRNA表达与单次束缚相比较而言都较低^[14,15]。重复束缚应激还可导致海马和垂体内促肾上腺皮质激素调节因子(CRF)mRNA水平的下降^[15]。此类现象同上文提到的单次/重复刺激造成的镇痛/痛敏现象存在一致性,这也提示了不同应激条件下HPA轴活性的改变与束缚诱导的痛觉感受变化之间存在着密切联系。

那么,HPA轴在应激状态下的激活如何影响痛觉呢?以往研究发现,肾上腺皮质分泌的皮质类固醇激素可进入细胞内并结合在核受体上,通过和其它转录因子之间的“蛋白-蛋白”作用直接或间接地调节基因转录,从而实现其功能。不过,虽然在应激状态下HPA轴的激活与痛觉丧失现象在多数情况下同时发生^[11,16],但许多实验证据都表明HPA轴是通过改变与痛觉相关物质的活性而间接参与应激诱导的痛觉改变,我们将在下文进一步讨论。

3.2 阿片肽 自1971年首次发现阿片肽类神经递质受体的存在^[17]以来,阿片肽类物质在痛觉感受与镇痛中的分子机制被人们逐步认识。对于应激前后阿片肽系统活性改变的研究一直以来都是应激诱导的镇痛机制研究的重要组成部分。很多实验都证明束缚应激(以及其他多种应激)诱导的镇痛现象可被纳洛酮(阿片肽受体拮抗剂)阻断或削弱^[6]。自上世纪八十年代起,学者普遍认为应激诱导的镇痛效应的分子机制可分为“阿片肽系统介导”和“非阿片肽系统介导”两大类^[18,19],足见其重要性。

阿片肽受体分为 μ 受体(MOR), δ 受体(DOR), κ 受体(KOR)三个亚型,其中MOR在镇痛作用中起到了关键的作用。在甩尾实验中,应激后野生型小鼠表现为镇痛效应,而在MOR、DOR、KOR基因敲除小鼠中这种镇痛现象却并不明显^[11],其中又以MOR基因敲除小鼠的镇痛效应最不明显^[6]。不过,对于MOR在镇痛现象中的主导作用并非得到所有研究结论的支持。有研究结果显示,在MOR基因敲除

的小鼠身上,DOR可能可以代替MOR介导应激诱导的镇痛作用^[20]。此外,急性噪音应激在导致产生镇痛效应的同时却使得MOR数量下降^[16]。

进一步的研究将靶点定位于具体核团,从而在对于阿片肽系统作用的组织特异性方面的研究取得了越来越多的进展。单次束缚可提高海马、纹状体和杏仁中央核(NAc)的脑啡肽A和B水平^[21,22]。在中枢神经系统中,不同核团的阿片肽系统对于应激的反应有着很大的差异。对单次束缚而言,MOR表达水平在下丘脑的改变并不明显,而在中脑却显著升高。MOR mRNA在重复两天的束缚后在下丘脑和中脑的表达水平显著升高;而重复束缚3 d后又回落至对照组水平^[11]。更长时间的束缚应激对于阿片肽系统的抑制作用更为明显:连续40 d的束缚应激会导致大鼠脊髓、端脑皮层以及海马区阿片肽受体密度的显著下降^[23]。那么,是什么原因导致了阿片肽系统在应激状态下被激活或抑制呢?

很多实验证据支持阿片肽系统可通过与HPA轴的交互作用实现其镇痛作用。一方面,注射CRH到外周炎症处可诱导强有力的镇痛作用,而这种作用可被 β -内啡肽抗血清所抑制^[24]。另一方面,外源性阿片类药物可通过激活HPA轴而显著提高血浆皮质酮浓度,进而产生免疫抑制作用^[25]。但是并非所有研究都支持上述观点。由于应激后MOR mRNA转录翻译同ACTH,皮质酮等血浆中浓度在时间上的变化规律存在不匹配性,因此有观点推断应激反应诱导的阿片肽系统与HPA轴之间的相互作用可能并非简单的“被决定”与“决定”^[11]。此外,Contet等^[6]在2006年报道了阿片肽基因敲除小鼠在应激状态下HPA轴仍然能够被正常激活,并且纳洛酮的摄入也不影响应激状态下血浆中皮质酮水平^[18]。这说明应激状态下阿片肽系统与HPA轴之间的交互作用可能并非我们想象的那么密切,甚至在某种程度上也可以独立行使各自功能。

另有一种观点提示应激状态下阿片肽系统的镇痛作用可能与炎症介质的释放有关。在炎症组织中,免疫细胞亦可分泌阿片样物质并且更容易与初级传入神经元上的阿片受体结合从而发挥镇痛作用^[26]。在野生型小鼠体内注射IL-1受体拮抗剂能够抑制应激诱导的镇痛效应^[27]。但是对于这个观点,目前还存在争议。也有研究表明在小鼠体内注射IL-1 β 能够反转吗啡诱导的镇痛效应^[28]。阿片肽系统如何参与束缚应激后的镇痛作用,其机制还有待更进一步研究。

3.3 5-羟色胺(5-HT) 5-HT是十分重要的神经递质,它在脑内的分泌、重摄取等诸多环节的改变直接与精神及情绪变化等神经功能有关。抑制5-HT的重摄取在临床上则表现出镇痛、抗抑郁等作用^[29]。

单次束缚应激能提高下丘脑内5-HT的分泌,进而使得5-HT在全脑水平的分泌增多^[30];重复束缚也可诱导5-HT的分泌^[31]。Korzeniewska等^[32]进行了大量的药理学实验,发现对氯苯丙氨酸(PCPA,5-HT合成抑制剂)预处理能够显著抑制束缚引起的镇痛效应;力坦色林(5-HT_{2A/2C}受体拮抗剂),昂丹司琼(ondansetron,5-HT₃受体拮抗剂)和西酞普兰

(citalopram, 选择性 5-HT 重摄取抑制剂)都能够提高疼痛阈值;而 8-OH-DPAT(全 5-HT_{1A}受体激动剂)和丁螺环酮(buspirone, 部分 5-HT_{1A}受体激动剂)对于疼痛以及应激诱导的镇痛没有影响,这些实验结果提示束缚诱导的镇痛现象有 5-HT 受体特异性的特点。

较早期的文献在整体水平上研究 5-HT 与 HPA 轴的交互作用时发现,双侧肾上腺切除并且注射肾上腺皮质激素生成抑制剂不影响应激对于 5-HT 分泌的激活作用,并由此推测在束缚应激诱导的镇痛现象上两者没有交互作用^[30]。但是如果将研究的范围具体到核团以及受体亚型水平,对于 5-HT 如何参与应激诱导的镇痛现象或许能够有更为细致准确的认识。CRF 受体 1/2 亚型阻断剂预处理可以显著抑制束缚应激诱导的 5-HT 在杏仁体中央核的释放,这提示应激诱导的 5-HT 的代谢改变受到 HPA 轴的调控^[33]。也有研究发现同时抑制单胺类物质在突触前小泡内储存与 5-HT 的合成,可完全消除应激诱导的镇痛现象;但是仅单独抑制 5-HT 的生成则没有影响^[34],因而推测其应激状态下的作用发挥也与儿茶酚胺类的活性改变有关。

3.4 儿茶酚胺类 蓝斑-交感神经-肾上腺系统的激活也是应激最明显的效果之一。该激活过程在某种程度上是为“fight or flight”做准备。儿茶酚胺类激素在应激状态下浓度随时间的变化趋势正符合其在应激初始阶段的作用。束缚应激 30 min 时,大鼠儿茶酚胺类血液浓度最高,而 50 min 后浓度逐渐下降^[35]。不同类型的肾上腺素(NA)受体在应激中所起到的作用存在着功能的分化, $\alpha 1$ 受体抑制剂(benoxathian)预处理可逆转束缚应激诱导的大鼠在社交接触(social interaction)实验中的行为学改变,但是 β 受体阻断剂却没有此效果^[36]。

在疼痛行为方面,儿茶酚胺类通过与其它激素或神经递质广泛的交互作用从而发挥其作用。研究发现活化 $\alpha 2$ 受体或阻断 NA 转运载体的功能能够产生镇痛作用,并且这其中又有阿片肽系统的参与^[37]。应激状态下,去甲肾上腺素的分泌释放对 HPA 轴的影响十分显著,其对于 ACTH 的分泌释放起着必不可少的作用。脑室内渗透注射儿茶酚胺受体阻断剂能够显著减少应激诱导的室旁核(PVN)以及杏仁核中区(MeA)内 ACTH 的释放^[38, 39]。

3.5 脑源性神经营养因子(BDNF) 脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的功能涉及神经生长、迁移、分化以及突触形成等多个方面^[40]。研究发现应激神经环路的个体差异可能就和 BDNF 的特异性表达有关^[41]。值得注意的还有,应激通过表观遗传学机制影响 BDNF 基因的表达 - 在单次束缚应激中,BDNF 外显子部分 DNA 甲基化以及组蛋白的乙酰化共同参与调控其转录的表达^[7, 42]。

较多的研究结果表明,在单次束缚应激后海马区 BDNF 外显子 I, IV 和 VI 的 mRNA 水平显著降低^[42],但重复束缚使得外显子 I/II 上调,III/IV 下调^[41]。对于整体的 BDNF mRNA 或蛋白质产物在应激刺激下的改变趋势,不同的研究有

不同结论。Marmigere 等^[43]在 2003 年报道单次短时束缚应激在海马区诱导了一个显著的 BDNF mRNA 水平及蛋白质水平的升高;但是另有多篇文献报道了单次/重复束缚应激可显著的降低海马区总体 BDNF mRNA 水平^[40, 44],并且单次应激结束 4 h 后 BDNF 蛋白质的含量显著减少^[42]。这样的降低趋势并不局限于 BDNF 蛋白质分子本身,还包括它们的高亲和力受体^[45]。上述实验结果差异较大,这给 BDNF 在应激状态下功能的阐明带来了困难。那么,BDNF 在应激状态下到底扮演怎样的角色?其表达水平改变的原因是什么?例如上文所述单次束缚 4 h 后其蛋白质含量显著减少,这意味着其各个外显子编码产物都减少还是一部分增加一部分减少?另外,由于蛋白质产物的减少出现在应激后 4 h 这个时间点,因此还引申出另一个问题,那就是减少的现象是由于蛋白质合成的抑制还是分解的加速?由于重复应激导致的 BDNF 表达的下调有部分原因来自于神经元的萎缩和凋亡^[46],那么残存的神经元内 BDNF 的表达的真实变化情况如何?其功能是得到了增强还是减弱?这些问题暂时都没有确切的答案。相信随着表观遗传学研究的深入,实验技术方法的提高,我们将能够逐步对其功能有更深刻准确的认知。

有研究表明应激对 BDNF 的影响可能与糖皮质激素有关。海马区 BDNF 外显子 IV 的启动子区可能存在皮质酮负向调控的靶点^[47],地塞米松也可以显著减少 BDNF mRNA 在海马区域的表达^[48]。皮质酮的摄入可显著减少 BDNF 外显子 IV 和 V 的水平^[7]。以上的实验证据中所提到的皮质激素对 BDNF 的影响,虽然并非全部来自于应激状态,但仍可以推测在应激状态下 HPA 轴激活导致的体内皮质激素浓度的升高也可能通过相似的机制对 BDNF 基因的表达进行调控,从而导致神经系统的功能性乃至器质性改变。同时,即便是在肾上腺切除的大鼠体内,应激仍能导致齿状回 BDNF mRNA 水平的下降,这说明应激造成的海马内 BDNF 的表达改变还受到其他因素的作用^[49]。

有关 BDNF 与应激后动物行为学改变之间的关系,以往药理学方面的研究给予我们相当多的有益提示。代谢性谷氨酸受体 2/3 激动剂(LY354740)可同时减少由束缚应激导致的 BDNF mRNA 表达水平的上升以及中部前额叶皮层 5-HT_{2A}受体的激活^[50],这似乎提示三者和功能上的联系。吡哆美辛(非甾体类消炎镇痛药)在镇痛的同时也可逆转由疼痛所导致的 BDNF 基因表达在脊髓的上调^[7]。以上这些实验结果都提示 BDNF 可能通过与其它物质的相互作用参与对疼痛的调控。但是我们也必须在此明确指出:在以上实验证据中,并没有直接证据证明在应激条件下,由于 BDNF 的表达水平和功能的特定变化从而导致疼痛的改变。

当然,我们也应当认识到,BDNF 的生物学作用往往需要一定的时间来实现,从而发挥其对于神经系统的调节功能并进而导致行为学上的改变。束缚应激 10 d 后,动物脊髓密度有所升高^[51],这是否与 BDNF(或者其他神经营养因子)的表达改变相关?此外上文所述重复束缚可能导致的痛觉增敏

是否与 BDNF 对神经系统的调节有关? 这些问题还有待于进一步的研究。

3.6 即刻早期基因(immediate early gene, IEG) 即刻早期基因在应激状态下能够迅速的转录表达并启动下游代谢反应, 因而它们常被作为脑功能性示踪的标记。应激条件下它们表达的增高常暗示着该脑区或核团内神经元活性的增高并可作为对刺激开始做出反应的“标志”。

束缚应激可诱导 *c-fos* 免疫阳性神经元在大脑皮层、隔区、丘脑、下丘脑、中脑室旁核、终纹床核和 MeA 等脑区表达增加^[12,52], 这说明了 *c-fos* 在这些核团的神经元中已大量转录表达。这种表达还具有显著的时程性, 单次束缚应激 15 min 后, 即可在 PVN 探测到 *c-fos* mRNA 的生成^[53], 在持续束缚情况下, *c-fos* 蛋白质产物在 4 h 时达到最高水平。随着束缚的持续, 在各脑区 *c-fos* mRNA 水平逐步下降, PVN 中束缚 2 h 后 *c-fos* mRNA 即消失^[54]。而重复束缚可迅速显著地降低下丘脑室旁核、侧间隔、额颞部皮质的 IEG 表达水平^[55]。

要证明在束缚应激状态下 IEG 参与影响疼痛改变, 论据一方面来自于 IEG 表达的特异性改变与镇痛协同发生的实验证据^[56]; 另外还需要关注 IEG 的下游基因及各类相关物质(包括将外界刺激信号传入胞内的递质以及胞内改变 IEG 表达的激酶系统), 从而系统地搞清 IEG 影响束缚后疼痛改变的内在规律。

以往文献已经说明, 重复束缚应激刺激造成 HPA 轴的反应性降低, 这种影响与 *c-fos* 基因的表达减少有关, 两者在应答部位、时程上均有稳定的一致性^[55]。就单次束缚而言, 地塞米松可减少束缚应激诱导的 *c-fos* 在皮层、海马区、下丘脑 PVN 以及蓝斑的表达而起到负向的调控作用^[57]。另一方面, 比较基因组学分析发现, 脊椎动物 CRF 基因近端启动子区的序列中包含了一些转录调控元件, 可以参与应激状态下 CRF 的激活, 例如激动蛋白 1 (AP-1/Fos/Jun) 等^[58], 提示 CRF 基因有可能是 *c-fos* 的靶基因。无独有偶, 有研究同时发现 CRF 可刺激 IEG 的表达, 而 CRF 受体拮抗剂预处理可以减少应激后杏仁核中央核中 *c-fos* mRNA 表达的升高^[59]。以上证据提示, 在 HPA 轴和 IEG 之间存在的是一个包括正向与负向调节等共同组成的完整的调控环路。

4 总结与展望

本文主要综述了一些与应激关系比较密切的递质、激素或基因, 并探讨了其与镇痛之间的联系。尽管本综述仅涉及应激与镇痛之间的因果关系, 但是必须认识到, 应激造成的影响是一个复杂的系统变化而不是个别物质表达水平的改变的简单叠加。简单总结来说: 以 HPA 轴为中心, 在束缚应激条件下, 多种物质参与了痛觉改变的生物学过程, 而且这些物质之间也存在着复杂的相互作用。以 CRF 为例, 在应激状态下, 它能诱导多种物质的表达和上调; 而这些接受 CRF 调控的物质通过外部摄入或内部代谢也可影响 CRF 本身的表达及作用。下丘脑中很多其他激素对于 HPA 轴的活性都有着不同的影响^[60]。造成这种现象是因为 HPA 轴调节网络中反馈机制的存在, 而 IEG 很可能就在这些物质代谢的

复杂调控中扮演着信息传递者的角色。

另外, 通过比较各类文献所报道的实验结果, 尤其是相互存在不匹配乃至矛盾的实验结果时, 我们发现: 在研究束缚应激诱导痛觉改变的分子机制中, 实验条件的严格控制尤为重要。这是因为在动物束缚应激模型建立的过程中, 外界条件发生改变, 将有可能导致动物整体应激行为的改变。例如在束缚过程中, 大鼠的啃咬行为显著抑制束缚诱导的镇痛效应, 并且影响分子水平上 ACTH、皮质酮以及 BDNF 等物质的相应表达^[44]。

在一般意义上, 应激(尤其是急性应激)条件下疼痛系统被抑制能够避免伤害性刺激对机体造成的不利影响。这使得其它系统能够更好的调节并发挥各自作用进而对应激做出恰当的、适应性的反应 - 这对动物求生有着重要的意义。研究束缚应激与疼痛的神经生物学基础的目的是为了更好地了解环境诱导的应激事件对动物整体行为造成的影响, 从而揭示其在临床应用方面的指导意义。此外在日常生活中也可以进一步帮助并指导人类正确对应激事件, 并进行及时主动的调整(或干预), 从而发挥应激对人类的正向促进作用, 避免其对人类个体及社会群体造成的不利影响。

束缚应激模型在行为水平和分子水平对机体都有着比较稳定的影响作用, 可较好地模拟人类社会心理性应激。但是, 正如上文所述, 由于目前众多研究结果尚有一些矛盾之处, 一定程度上制约了更深一步的机制性研究。尽管各类物质参与束缚应激诱导的痛觉改变的作用靶点及调节机制可能有所不同, 但是以神经内分泌学为基础, 综合分析各类因素对机体整体内环境稳态的调节作用, 在分子机制上逐步搞清不同物质参与这一生物学过程的内在联系, 应该是一个具有良好前景的研究方向。进一步来讲, 这对揭示应激与疼痛的复杂关系, 筛选新型的抗应激药物有着巨大的推动作用。

参 考 文 献

- [1] Wheatley D. Stress, anxiety and depression [J]. *Stress Med*, 1997, 13:173-177.
- [2] McEwen BS, Stellar E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease [J]. *Arch Intern Med*, 1993, 153:2093-2101.
- [3] Bars DL, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception [J]. *Pharmacol Rev*, 2001, 53:597-652.
- [4] Ford GK, Finn DP. Clinical correlates of stress-induced analgesia: Evidence from pharmacological studies [J]. *Pain*, 2008, 140:3-7.
- [5] Costa A, Smeraldi A, Tassorelli C, et al. Effects of acute and chronic restraint stress on nitroglycerin-induced hyperalgesia in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 383:7-11.
- [6] Contet C, Gavériaux-Ruff C, Matifas A, et al. Dissociation of analgesic and hormonal responses to forced swim stress using opioid receptor knockout mice [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2006, 31:1733-1744.

- [7] Fuchikami M, Morinobu S, Kurata A, *et al.* Single immobilization stress differentially alters the expression profile of transcripts of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and histone acetylation at its promoters in the rat hippocampus [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2009, 12:73 - 82.
- [8] Seo YJ, Kwon MS, Shim EJ, *et al.* Changes in pain behavior induced by formalin, substance P, glutamate and pro-inflammatory cytokines in immobilization-induced stress mouse model [J]. *Brain Res Bull*, 2006, 71:279 - 286.
- [9] Noguchi T, Makino S, Maruyama H, *et al.* Regulation of proopiomelanocortin gene transcription during single and repeated immobilization stress [J]. *Neuroendocrinology*, 2006, 84:21 - 30.
- [10] Dong Q, Salva A, Sottas CM, *et al.* Rapid glucocorticoid mediation of suppressed testosterone biosynthesis in male mice subjected to immobilization stress [J]. *J Androl*, 2004, 25:973 - 981.
- [11] Yamamoto M, Komori T, Matsumoto T, *et al.* Effects of single and repeated prolonged stress on mu-opioid receptor mRNA expression in rat gross hypothalamic and midbrain homogenates [J]. *Brain Res*, 2003, 980:191 - 196.
- [12] Rotllant D, Nadal R, Armario A. Differential effects of stress and amphetamine administration on Fos-like protein expression in corticotropin releasing factor-neurons of the rat brain [J]. *Dev Neurobiol*, 2007, 67:702 - 714.
- [13] Ma S, Mifflin SW, Cunningham JT, *et al.* Chronic intermittent hypoxia sensitizes acute hypothalamic-pituitary-adrenal stress reactivity and fos induction in the rat locus coeruleus in response to subsequent immobilization stress [J]. *Neuroscience*, 2008, 154:1639 - 1647.
- [14] Noguchi T. Regulation of glucocorticoid receptor (GR) transcription during acute and repeated immobilization stress [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2006, 27:38 - 62.
- [15] Chen JX, Tang YT, Yang JX. Changes of glucocorticoid receptor and levels of CRF mRNA, POMC mRNA in brain of chronic immobilization stress rats [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2008, 28:237 - 244.
- [16] Vitale G, Arletti M, Sandrini M. Acute noise stress analgesia in relation to 5-HT₂ and μ -opioid receptor changes in the frontal cortex of young mice [J]. *Life Sci*, 2005, 77:2500 - 2513.
- [17] Goldstein A, Lowney LI, Pal BK. Stereospecific and nonspecific interactions of the morphine congener levorphanol in subcellular fractions of mouse brain [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1971, 68:1742 - 1747.
- [18] Filaretov AA, Bogdanov AI, Iarushkina NI. Stress-induced analgesia. The role of the hormones of the hypophyseal-adrenocortical system [J]. *Neurosci Behav Physiol*, 1996, 26:572 - 578.
- [19] Kelsey JE, Hoerman WA 4th, Kimball LD 3rd, *et al.* Arcuate nucleus lesions reduce opioid stress-induced analgesia (SIA) and enhance non-opioid SIA in rats [J]. *Brain Res*, 1986, 382:278 - 290.
- [20] LaBuda CJ, Sora I, Uhl GR, *et al.* Stress-induced analgesia in mu-opioid receptor knockout mice reveals normal function of the delta-opioid receptor system [J]. *Brain Res*, 2000, 869:1 - 5.
- [21] Shirayama Y, Ishida H, Iwata M, *et al.* Stress increases dynorphin immunoreactivity in limbic brain regions and dynorphin antagonism produces antidepressant-like effects [J]. *J Neurochem*, 2004, 90:1258 - 1268.
- [22] Lucas LR, Wang CJ, McCall TJ, *et al.* Effects of immobilization stress on neurochemical markers in the motivational system of the male rat [J]. *Brain Res*, 2007, 1155:108 - 115.
- [23] Dantas G, Torres IL, Crema LM, *et al.* Repeated restraint stress reduces opioid receptor binding in different rat CNS structures [J]. *Neurochem Res*, 2005, 30:1 - 7.
- [24] Jessop DS. Beta-endorphin in the immune system--mediator of pain and stress [J]. *Lancet*, 1998, 351:1828 - 1829.
- [25] Gavériaux-Ruff C, Matthes HW, Peluso J, *et al.* Abolition of morphine-immunosuppression in mice lacking the mu-opioid receptor gene. *Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95:6326 - 6330.
- [26] Mousa SA, Zhang Q, Sitte N, *et al.* beta-Endorphin-containing memory-cells and mu-opioid receptors undergo transport to peripheral inflamed tissue [J]. *J Neuroimmunol*, 2001, 115:71 - 78.
- [27] Wolf G, Yirmiya R, Kreisel T, *et al.* Interleukin-1 signaling modulates stress-induced analgesia [J]. *Brain Behav Immun*, 2007, 21:652 - 659.
- [28] Shavit Y, Wolf G, Goshen I, *et al.* Interleukin-1 antagonizes morphine analgesia and underlies morphine tolerance [J]. *Pain*, 2005, 115:50 - 59.
- [29] Harmer CJ, Shelley NC, Cowen PJ, *et al.* Increased positive versus negative affective perception and memory in healthy volunteers following selective serotonin and norepinephrine reuptake inhibition [J]. *Am J Psychiatry*, 2004, 161:1256-63.
- [30] Bhattacharya SK, Bhattacharya D. Effect of restraint stress on rat brain serotonin [J]. *J Biosci*, 1982, 4:269 - 274.
- [31] Adell A, Garcia-Marquez C, Armario A, *et al.* Chronic stress increases serotonin and noradrenaline in rat brain and sensitizes their responses to a further acute stress [J]. *J Neurochem*, 1988, 50:1678 - 1681.
- [32] Korzeniewska I, Plaznik A. Influence of serotonergic drugs on restraint stress induced analgesia [J]. *Pol J Pharmacol*, 1995, 47:381 - 385.
- [33] Mo B, Feng N, Renner K, *et al.* Restraint stress increases serotonin release in the central nucleus of the amygdala via activation of corticotropin-releasing factor receptors [J]. *Brain Res Bull*, 2008, 76:493 - 498.
- [34] Jensen TS, Smith DF. Monoaminergic mechanisms in stress-induced analgesia [J]. *J Neural Transm*, 1982, 53:247 - 255.
- [35] Sanchez A, Toledo-Pinto EA, Menezes ML, *et al.* Changes in norepinephrine and epinephrine concentrations in adrenal gland of the rats submitted to acute immobilization stress [J]. *Pharmacol Res*, 2003, 48:607 - 613.
- [36] Cecchi M, Khoshbouei H, Morilak DA. Modulatory effects of norepinephrine, acting on alpha₁ receptors in the central nucleus of the amygdala, on behavioral and neuroendocrine responses to acute immobilization stress [J]. *Neuropharmacology*, 2002, 43:1139 - 1147.

- [37] Bohn LM, Xu F, Gainetdinov RR, *et al.* Potentiated opioid analgesia in norepinephrine transporter knock-out mice [J]. *J Neurosci*, 2000, 20:9040 – 9045.
- [38] Szafarczyk A, Malaval F, Laurent A, *et al.* Further evidence for a central stimulatory action of catecholamines on adrenocorticotropin release in the rat [J]. *Endocrinology*, 1987, 121:883 – 890.
- [39] Ma S, Morilak DA. Norepinephrine release in medial amygdala facilitates activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to acute immobilisation stress [J]. *J Neuroendocrinol*, 2005, 17:22 – 28.
- [40] Park SW, Lee CH, Lee JG, *et al.* Differential effects of ziprasidone and haloperidol on immobilization stress-induced mRNA BDNF expression in the hippocampus and neocortex of rats [J]. *J Psychiatr Res*, 2009, 43:274 – 281.
- [41] Nair A, Vadodaria KC, Banerjee SB, *et al.* Stressor-specific regulation of distinct brain-derived neurotrophic factor transcripts and cyclic amp response element-binding protein expression in the post-natal and adult rat hippocampus [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2006, 32:1504 – 1519.
- [42] Duric V, McCarron KE. Effects of analgesic or antidepressant drugs on pain- or stress-evoked hippocampal and spinal neurokinin-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor gene expression in the rat [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 319:1235 – 1243.
- [43] Marmigère F, Givalois L, Rage F, *et al.* Rapid induction of BDNF expression in the hippocampus during immobilization stress challenge in adult rats [J]. *Hippocampus*, 2003, 13:646 – 655.
- [44] Lee T, Saruta J, Sasaguri K, *et al.* Allowing animals to bite reverses the effects of immobilization stress on hippocampal neurotrophin expression [J]. *Brain Res*, 2008, 1195:43 – 49.
- [45] Ueyama T, Kawai Y, Nemoto K, *et al.* Immobilization stress reduced the expression of neurotrophins and their receptors in the rat brain [J]. *Neurosci Res*, 1997, 28: 103 – 110.
- [46] Murakami S, Imbe H, Morikawa Y, *et al.* Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly [J]. *Neurosci Res*, 2005, 53:129 – 139.
- [47] Hansson AC, Sommer WH, Metsis M, *et al.* Corticosterone actions on the hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression are mediated by exon IV promoter [J]. *J Neuroendocrinol*, 2006, 18: 104 – 114.
- [48] Vellucci SV, Parrott RF, Mimmack ML. Down-regulation of BDNF mRNA, with no effect on trkB or glucocorticoid receptor mRNAs, in the porcine hippocampus after acute dexamethasone treatment [J]. *Res Vet Sci*, 2001, 70:157 – 162.
- [49] Smith MA, Makino S, Kvetnansky R, *et al.* Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus [J]. *J Neurosci*, 1995, 15:1768 – 1777.
- [50] Lee Y, Duman RS, Marek GJ. The mGlu2/3 receptor agonist LY354740 suppresses immobilization stress-induced increase in rat prefrontal cortical BDNF mRNA expression [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 398: 328 – 332.
- [51] Mitra R, Jadhav S, McEwen BS, *et al.* Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102:9371 – 9376.
- [52] Ueyama T, Tanioku T, Nuta J, *et al.* Estrogen alters *c-Fos* response to immobilization stress in the brain of ovariectomized rats [J]. *Brain Res*, 2006, 1084: 67 – 79.
- [53] Weinberg MS, Girotti M, Spencer RL. Restraint-induced *fra-2* and *c-fos* expression in the rat forebrain: relationship to stress duration [J]. *Neuroscience*, 2007, 150: 478 – 486.
- [54] Tan Z and Nagata S. PVN *c-fos* expression, HPA axis response and immune cell distribution during restraint stress [J]. *J UOEH*, 2002, 24:131 – 149.
- [55] Girotti M, Pace TW, Gaylord RI, *et al.* Habituation to repeated restraint stress is associated with lack of stress-induced *c-fos* expression in primary sensory processing areas of the rat brain [J]. *Neuroscience*, 2006, 138:1067 – 1081.
- [56] De Medeiros MA, Canteras NS, Suchecki D, *et al.* Analgesia and *c-Fos* expression in the periaqueductal gray induced by electroacupuncture at the Zusanli point in rats [J]. *Brain Res*, 2003, 973: 196 – 204.
- [57] De Medeiros MA, Carlos Reis L, Eugenio Mello L, Stress-induced *c-Fos* expression is differentially modulated by dexamethasone, diazepam and imipramine [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2005, 30: 1246 – 1256.
- [58] Yao M, Denver RJ. Regulation of vertebrate corticotropin-releasing factor genes [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2007, 153:200 – 216.
- [59] Funk D, Li Z, Shaham Y, *et al.* Effect of blockade of corticotropin-releasing factor receptors in the median raphe nucleus on stress-induced *c-fos* mRNA in the rat brain [J]. *Neuroscience*, 2003, 122:1 – 4.
- [60] McQuade JM, Tamashiro KL, Wood GE, *et al.* Deficient hippocampal *c-fos* expression results in reduced anxiety and altered response to chronic stress in female mice [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 403:125 – 130.

(收稿日期:2009-09-10)