

电针对焦虑大鼠胸腺组织形态、心钠肽和利钠肽受体-A 表达的影响

黄文琴¹ 魏大能¹ 周奇志¹ 余曙光¹ 蔡定均¹ 魏京金¹
肖 夏¹ 姚 弘¹ 谢光春¹ 杨名己¹ 钟振东²

摘要 目的 通过观察电针对焦虑模型大鼠胸腺组织形态、胸腺心钠肽(atrial natriuretic peptide, ANP)和利钠肽受体-A(natriuretic peptide receptor type A, NPR-A)表达的影响,探讨针刺调节焦虑障碍免疫功能的可能机制。**方法** 将 34 只健康 SD 大鼠随机分为空白组(10 只)、模型组(12 只)和电针组(12 只)。模型组和电针组大鼠均采用慢性不可预见性应激刺激方法复制焦虑模型。电针组运用电针刺刺激内关和神门穴,隔日 1 次,每次留针 15 min,持续 15 日。其余两组在同一时间以相同方法固定 15 min,未予电针治疗。运用高架十字迷宫实验测试大鼠焦虑行为;光学显微镜观察胸腺组织病理改变;免疫组化法观察胸腺 ANP、NPR-A 的表达。**结果** 模型组大鼠胸腺组织形态发生重度萎缩,胸腺小叶结构不清,胸腺皮质髓界限不清,淋巴细胞排列疏松,胸腺小体体积明显增大。电针组大鼠胸腺轻度萎缩,胸腺小叶结构存在,皮质髓分界清楚,皮质区淋巴细胞稠密,髓质区增宽。与空白组比较,模型组大鼠在开臂的次数(open-arms entries, OE)占进入开闭臂总次数的百分比(OE%)明显下降($P < 0.05$), ANP 表达升高($P < 0.05$), NPR-A 表达降低($P < 0.01$);与模型组比较,电针组 OE% 值明显升高($P < 0.05$), ANP 表达降低($P < 0.05$), NPR-A 表达升高($P < 0.01$)。**结论** 电针除具有降低大鼠焦虑情绪的作用外,还可通过干预胸腺 ANP 的合成和分泌及其特异性受体 NPR-A 的表达,改善由于慢性应激所致的胸腺受损。

关键词 针刺;焦虑;胸腺;心钠肽;利钠肽受体-A

Effect of Acupuncture on Histology of Thymus and Expressions of ANP and NPR-A in Anxiety Rats HUANG Wen-qin¹, WEI Da-neng¹, ZHOU Qi-zhi¹, YU Shu-guang¹, CAI Ding-jun¹, WEI Jing-jin¹, XIAO Xia¹, YAO Hong¹, XIE Guang-chun¹, YANG Ming-ji¹, and ZHONG Zhen-dong² 1 College of Acupuncture, Moxibustion, and Tuina, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu (610075); 2 Sichuan Provincial Academy of Medical Sciences, Experimental Animal Institute of Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu (610212)

ABSTRACT Objective To explore possible mechanism of electroacupuncture (EA) for regulating immune function in anxiety disorder (AD) rats by observing the effect of acupuncture on the histology of thymus and expressions of atrial natriuretic peptide (ANP) and natriuretic peptide receptor type A (NPR-A) in thymus. **Methods** Totally 34 SD healthy rats were randomly divided into the blank control group ($n=10$), the model group ($n=12$), the EA group ($n=12$). Anxiety model was established in rats of the model group and the EA group by using chronic unpredictable stress (CUS) stimulation. EA (15/25 Hz) at Neiguan (PC6) and Shenmen (HT7) was performed in the EA group, with 15-min needle retaining, once every other day, 15 days in total. Needle was fixed at same acupoints for 15 min without electric stimulus in the other two groups. Anxiety-like behavior was measured by elevated plus-maze (EPM) test. Pathological changes of thymus tissue were observed by optical microscope. Expressions of ANP and NPR-A in thymus were measured by immunohistochemical assay. **Results** The thymus tissue in the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81173322);国家重点基础研究发展计划(973)课题项目(No. 2010 CB 530501)

作者单位:1.成都中医药大学针灸推拿学院(成都 610075);2.四川省医学科学院 四川省人民医院实验动物研究所(成都 610212)

通讯作者:钟振东, Tel:15882233227, E-mail: 1955208858@qq.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2016. 02. 0216

model group was severely atrophied, with unclear structure of thymic lobules, unclear margin of thymic medulla, loosely arranged lymphocytes, and obviously enlarged volume of thymic corpuscle. The thymus tissue in the EA group was mildly atrophied, with existent structure of thymic lobules, clear margin of thymic medulla, densely arranged lymphocytes in cortical region, and widened medullary area. Compared with the blank control group, the percentage of open-arms entries (OE%) in the total OE times obviously decreased in the model group ($P < 0.05$), ANP expression obviously increased ($P < 0.05$), and NPR-A expression obviously decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, OE% was obviously elevated ($P < 0.05$), ANP expression obviously decreased ($P < 0.05$), and NPR-A expression obviously increased ($P < 0.01$) in the EA group. Conclusion EA not only could reduce anxiety of rats, but also could improve chronic stress induced thymus injury through intervening synthesis and secretion of ANP, as well as the expression of NPR-A (a specific receptor of ANP).

KEYWORDS acupuncture; anxiety; thymus; atrial natriuretic peptide; natriuretic peptide receptor type A

焦虑障碍(anxiety disorder, AD)是临床常见的一种精神类疾病^[1],越来越多的研究表明,焦虑障碍会导致免疫系统的损害^[2-6]。胸腺作为中枢免疫器官,在焦虑等慢性心理应激中,易受到损伤^[7,8]。近年来,随着神经-内分泌-免疫网络(neuro-endocrine immunoregulatory network, NEI)研究的发展,焦虑障碍与神经、内分泌、免疫的关系越来越受关注^[9-12]。胸腺心钠肽(atrial natriuretic peptide, ANP)作为 NEI 中广泛存在的肽类激素^[13-17],与焦虑障碍的发病有密切相关性^[18],且在胸腺的 ANP 系统可能与免疫和神经内分泌系统之间的沟通关联^[19,20]。胸腺既是 ANP 的靶器官^[21,22],也是 ANP 的合成部位^[23,24],且在胸腺免疫细胞上有与环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)耦合的特异性 ANP 受体^[25];此外,ANP 对胸腺细胞的增殖和分化^[22,26]、凋亡和再生^[27]等都有影响。同时,针刺能调节多种器官和组织的 ANP 水平^[28,29],抑制多种原因所致的胸腺损伤^[30-32]。然而,针刺能否通过调控胸腺 ANP 及其受体,抑制胸腺受损,起到调节焦虑障碍免疫功能的作用,目前国内外尚未见报道。本实验通过观察电针对焦虑模型大鼠胸腺组织形态及胸腺 ANP、利钠肽受体-A(natriuretic peptide receptor type A, NPR-A)表达的影响,探讨电针调节焦虑障碍免疫功能的可能机理。

材料与方法

1 动物 34 只 SD 健康雄性大鼠,清洁级,8 周龄,体重 180~200 g,由成都达硕实验动物有限公司提供,许可证号:SCXK(川)2008-24。常规饲养,自由饮食、饮水,自动光暗控制为 7:00—19:00 光照,19:00—7:00 熄灯。每隔 30 min 通风 30 min。实

验前适应性饲养 1 周。

2 试剂与仪器 ANP 多克隆兔抗(上海圣克鲁斯生物技术有限公司,批号:SC-80686);NPR-A 多克隆兔抗(北京博奥森生物技术有限公司,批号:bs-7517R);十字迷宫视频跟踪系统(PM-200 型,成都泰盟科技有限公司);电针仪(G6805-II型,青岛鑫升实业有限公司);华佗牌毫针(0.19 mm × 10 mm,苏州医疗用品厂有限公司);跳台仪(STT-2 型,北京医科院药研所制);振荡器(KS 型,江苏金坛市金城同胜实验仪器厂);数码三目摄像显微摄像系统(BA200Digital 型,麦克奥迪实业集团有限公司);图像分析系统(Image-Pro Plus 6.0,美国 Media Cybernetics 公司)。

3 动物分组及造模 运用 SPSS 17.0 软件将 34 只健康 SD 大鼠随机分为空白组 10 只、模型组 12 只和电针组 12 只。参照文献[33,34],采用慢性不可预见性应激(chronic unpredictable stress, CUS)方法复制焦虑模型,除空白组外,其余各组大鼠每日接受各种不同的应激刺激,包括:禁水禁食 24 h;摇摆一拥挤 1 h;束缚 30 min;夹尾 10 min;高密度居住 24 h;足底电击 15 min;暖泳 20 min 和冷泳 15 min。以上 7 种应激刺激随机安排,每日 1 种,持续 15 日。

4 治疗方法 电针组参照《实验针灸学》^[35],选取内关、神门穴,针刺进针 3 mm,针柄连接 G6805-II 型电针治疗仪(青岛鑫生实业有限公司)。电针参数:疏密波,频率 15/25 Hz,刺激强度以大鼠针刺处肢体轻微抖动为度,每次留针 15 min。于造模当天开始治疗,隔日 1 次,左右交替,持续 15 日。其余两组在同一时间以相同方法固定 15 min,未予电针治疗。

5 检测指标及方法

5.1 行为学测试 参照文献[33,36]。采用高

架十字迷宫实验(elevated plus maze test, EPM)测试行为学。将大鼠置于高架十字迷宫开臂一端,运用 PM-200 十字迷宫视频跟踪系统自动监测记录 5 min 内大鼠在开臂停留时间(open-arms time, OT)和进入开臂的次数(open-arms entries, OE)分别占进入两臂区停留总时间和总次数的百分比(OT%和OE%)。EPM 测试的项目中,焦虑动物的 OE%和 OT%会明显降低。且动物在开臂停留时间越短(即 OT%越小),或进入开臂次数越少(即 OE%越小),表示其焦虑程度越高。行为学测试于造模第 14 日进行。

5.2 取材方法 造模及电针治疗结束后,留取血浆和胸腺组织标本。大鼠乙醚轻度麻醉后,取股动脉采血 2 mL,肝素抗凝,以 4℃、3 000 r/min,离心 5 min,取上清于 -20℃ 冰箱保存待测。大鼠处死后快速摘取胸腺组织,以 4%多聚甲醛液进行固定,并常规脱水,包埋,以备检测。

5.3 胸腺组织病理学观察 常规石蜡切片,HE 染色,应用光学显微镜进行胸腺病理学观察。

5.4 胸腺 ANP 和 NPR-A 水平 采用免疫组化(SP 法)检测。主要步骤参照北京博奥森生物技术有限公司免疫组化检测试剂盒说明书。结果判定:阳性细胞胞质呈棕黄色。每张切片随机选 4 个视野,应用 BA200Digital 数码三目摄像显微摄像系统采集图像,运用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统进行光密度分析,并计算平均光密度(average optical density, AOD)。

6 统计学方法 运用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析;两两比较,方差齐时用 LSD 检验,方差不齐时用 Tamhane's *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般情况 空白组大鼠精力充沛、活动度可、体毛光泽、大便正常;模型组大鼠精神欠佳、活动减少、体毛欠光泽、大便偏多;电针组大鼠精神尚可,活动尚正常、体毛光泽、大便正常。在造模过程中,模型组大鼠死亡 1 只,因受伤剔除 1 只。因此,行为学测试样本量为空白组 10 只、模型组 10 只和针刺组 12 只。在取血和取胸腺过程中,模型组和针刺组又各损失一个样本。因此病理学和免疫组化检测样本量为空白组 10 只、模型组 9 只和针刺组 11 只。

2 各组大鼠高架十字迷宫行为学比较(表 1) 与空白组比较,模型组 OE 值明显下降($P < 0.05$);与模型组比较,电针组 OE 值明显升高($P < 0.05$);OT

值各组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠高架十字迷宫行为学 OE 和 OT 值比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	OE	OT
空白	10	36.44 ± 13.13	16.35 ± 13.57
模型	10	21.71 ± 9.92 *	15.03 ± 10.70
电针	12	38.69 ± 20.36 [△]	16.93 ± 8.99

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

3 各组大鼠胸腺组织病理学观察(图 1) 光学显微镜下,大鼠胸腺组织有被膜和小梁,小梁将胸腺实质分隔成许多完全不同的小叶,每个小叶又可分为皮质和髓质。皮质为密集排列的 T 淋巴细胞构成。髓质内主要是由上皮性网状细胞及少许 T 淋巴细胞构成。数层上皮性网状细胞形成大小不等的胸腺小体。空白组大鼠胸腺组织结构存在,皮髓分界清楚,皮质区淋巴细胞稠密,髓质区淋巴细胞稀少,胸腺小体体积无明显增大。模型组大鼠胸腺组织形态发生重度萎缩,胸腺小叶结构不清,胸腺皮髓界限不清,淋巴细胞排列疏松,胸腺小体体积明显增大。电针组大鼠胸腺轻度萎缩,胸腺小叶结构存在,皮髓分界清楚,皮质区淋巴细胞稠密,髓质区增宽。

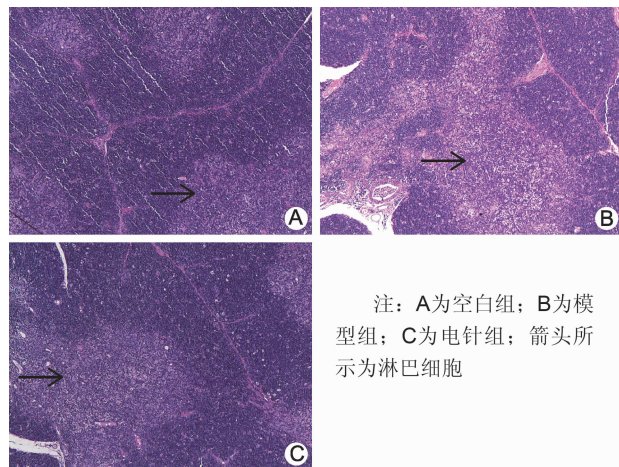


图 1 各组大鼠胸腺组织病理学变化(HE 染色, ×100)

4 各组大鼠胸腺 ANP 表达比较(图 2, 表 2) 免疫组化阳性细胞的细胞膜和细胞浆呈棕黄色。空白组 ANP 阳性细胞主要在胸腺被膜下层、皮质和皮髓交界处;模型组出现 ANP 阳性细胞明显增多的现象,主要是在皮质和皮髓交界处;电针组 ANP 阳性细胞较模型组减少,主要分布在皮质和皮髓交界处。

与空白组比较,模型组胸腺 ANP 表达升高($P < 0.05$);与模型组比较,电针组胸腺 ANP 表达降低($P < 0.05$)。

讨 论

CUS 模型是目前国际上通用的焦虑障碍造模方法之一,是焦虑障碍病理生理研究广泛运用的动物模型。在前期研究中,采用高架十字迷宫,观察 CUS 模型大鼠的行为学变化发现,与空白组比较,模型组的焦虑行为明显增加^[37,38]。本实验采用慢性不可预知应激刺激的造模方法,复制焦虑模型。本实验结果显示,与空白组相比,模型组 OE% 值明显下降;与模型组比较,电针组 OE% 值明显升高。提示模型动物呈现焦虑状态,本实验造模成功,且电针具有良好的抗焦虑效应。

NEI 学说认为,慢性心理应激可通过神经递质、细胞因子、激素等影响免疫功能^[39,40]。有研究显示,持续 6 日条件反应箱电刺激 15 min 慢性心理应激的小鼠,胸腺指数明显下降,自然杀伤细胞活性及淋巴细胞转化率均明显下降,胸腺细胞凋亡率升高,胸腺组织病理损伤加重^[7];持续 5 日 30 min 足底电击慢性心理应激小鼠,胸腺细胞的总数量明显减少^[41];持续 14 日的 8 h 慢性束缚心理应激,能造成小鼠胸腺细胞的损伤^[40]。可见,多种方式建立的慢性心理应激均可导致胸腺受损。本实验结果显示,CUS 慢性心理应激焦虑模型大鼠,胸腺发生病理性改变,这与文献报道相似^[40,41]。针刺作为传统治疗手段,一方面,对慢性心理应激所致免疫功能受损产生治疗作用^[40,41];另一方面,能对慢性应激导致的胸腺损伤表现出保护作用^[30,31]。有研究表明,针刺能上调大强度运动应激大鼠过低的胸腺指数^[30];提高游泳训练模型小鼠过低的胸腺系数^[31];减少由于创伤应激诱导的胸腺细胞凋亡,并改善胸腺增殖能力^[42]。可见,针刺可抑制由于慢性应激所致的胸腺受损。本实验观察到,电针组大鼠较模型组,胸腺病理损伤明显减轻。提示电针能抑制 CUS 焦虑模型大鼠的胸腺受损,对焦虑模型大鼠胸腺产生保护作用,这与文献报道相类似^[30,31,42]。

ANP 作为 NEI 中重要的一种肽类激素,它及其受体广泛存在于体内各类器官和组织中^[22]。现代研究已证实,慢性心理应激可引起多种器官和组织 ANP 及其受体 NPR-A 的水平的改变^[43-45]。有研究发现,暴露于强势小鼠的社会慢性心理应激小鼠,血浆 ANP 水平增加^[43];暴露于慢性可变应激源环境中 4 周的慢性心理应激小鼠,血浆和左心室 ANP 浓度增加^[44];暴露于居室入侵刺激 2 周的慢性心理应激大鼠,神经系统和心血管系统 ANP、NPR-A 增加^[45]。可见,慢性心理应激模型的神经心血管系统的 ANP 及 NPR-A

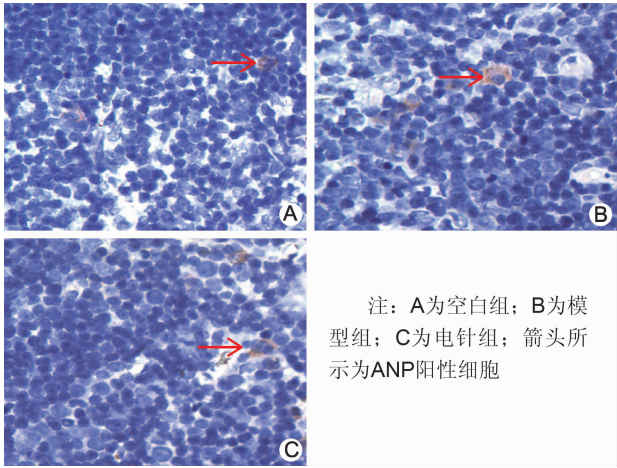


图2 各组大鼠胸腺 ANP 表达比较
(免疫组化染色,×400)

5 各组大鼠胸腺 NPR-A 表达比较(图 3,表 2)
光镜下观察,NPR-A 阳性反应物主要分布于细胞膜和细胞浆,呈棕黄色或褐色,空白组主要在胸腺皮质和髓质;模型组 NPR-A 阳性细胞较空白组呈现减少趋势;电针组较模型组,可见更多的阳性细胞。

与空白组比较,模型组胸腺 NPR-A 表达降低($P<0.05$);与模型组比较,电针组胸腺 NPR-A 表达升高($P<0.01$)。

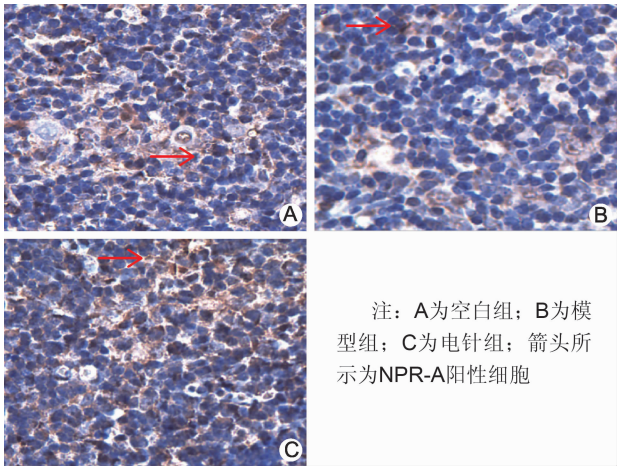


图3 各组大鼠胸腺 NPR-A 表达比较
(免疫组化染色,×400)

表 2 各组大鼠胸腺细胞 ANP 和 NPR-A 表达比较 ($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	ANP	NPR-A
空白	10	0.1063±0.0009	0.2107±0.0067
模型	9	0.1071±0.0004*	0.1959±0.0079*
电针	11	0.1065±0.0006 [△]	0.2122±0.0095 ^{△△}

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$

水平发生紊乱。本实验结果显示,CUS 焦虑模型大鼠胸腺 ANP 水平明显升高,NPR-A 水平明显降低。提示,CUS 焦虑模型大鼠胸腺 ANP、NPR-A 水平发生紊乱,与文献报道^[44,45]有一定的相似性。此外,针刺能调节体内多种器官和组织紊乱的 ANP 水平^[14,28,29]。有研究发现,针刺能提高大鼠过低的心肌 ANP 含量^[14];上调大鼠过低的下丘脑 ANP 含量^[28];下调大鼠过高的血浆 ANP 含量^[29]。本实验结果发现,电针可下调 CUS 焦虑模型大鼠胸腺过高的 ANP 水平、上调过低的 NPR-A 水平,并趋向于正常。提示电针对焦虑所致胸腺 ANP、NPR-A 水平紊乱,有良性调节作用。

现代研究发现,ANP 在胸腺细胞增殖和分化、凋亡与再生中发挥重要作用^[22,26,27]。有研究显示,将 ANP 加入胎鼠胸腺器官培养 7 天后,细胞产率降低至正常的 65%,CD4⁺CD8⁺ 胸腺细胞减少至 35%^[26]。另有研究显示,ANP 能抑制刀豆球蛋白 A (concanavalin A, Con A) 引起的胸腺细胞增殖^[22]。可见,ANP 与胸腺细胞增殖以及凋亡密切相关。从本实验结果来看,焦虑模型大鼠胸腺受损的同时,伴有胸腺 ANP、NPR-A 水平的紊乱。提示 CUS 慢性心理应激所致胸腺 ANP、NPR-A 水平紊乱可能与胸腺受损有关。此外,本实验研究还发现,电针在改善焦虑模型大鼠胸腺受损的同时,还能调节其胸腺紊乱的 ANP、NPR-A 水平。提示电针对 CUS 焦虑模型大鼠胸腺的保护作用,与其对胸腺 ANP、NPR-A 水平的调节作用也有密切联系。

综上,电针具有降低大鼠焦虑情绪、抑制胸腺受损,调节胸腺 ANP、NPR-A 水平的作用。结合既往研究发现,ANP 可影响胸腺细胞增殖和分化、凋亡与再生,提示电针可能通过干预胸腺 ANP 的合成和分泌及其受体 NPR-A 的表达,进而影响胸腺细胞的成熟、分化、增殖、凋亡和再生等环节,从而改善由于慢性应激所致的胸腺受损。由于 ANP 受体可偶联活性的第二信使 cGMP,ANP 又可刺激离体胸腺细胞 cGMP 的形成^[25],而针刺是否还可通过影响 ANP 受体下游信号分子传导来调节焦虑障碍的免疫功能? 将尚待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 吴卉,李春波.焦虑障碍的神经生化研究[J].精神医学杂志,2013,26(1):72-74.
- [2] 沈鑫华,陈加美,孙松涛,等.广泛焦虑障碍的心理社会因素、免疫学相关研究[J].中国心理卫生杂志,2003,17(6):397-400.
- [3] 谢健,高力舒.焦虑症患者去甲肾上腺素、总皮质醇及白介素-2测定[J].浙江临床医学杂志,2006,8(8):798-799.
- [4] Vogelzangs N, Beekman AT, de Jonge P, et al. Anxiety disorders and inflammation in a large adult cohort [J]. Transl Psychiatry, 2013, 23(3): e249.
- [5] Arranz L, Guayerbas N, Siboni L, et al. Effect of acupuncture treatment on the immune function impairment found in anxious women [J]. Am J Chin Med, 2007, 35(1): 35-51.
- [6] Loskutova LV, Idova GV, Gevorgyan MM. Immune response in Wistar rats with high and low level of situational anxiety [J]. Bull Exp Biol Med, 2007, 144(5): 706-708.
- [7] 张云,吴振宇,肖建,等.美替拉酮阻断下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴及加味逍遥丸对慢性心理应激小鼠免疫系统的影响[J].中西医结合学报,2006,4(4):363-367.
- [8] Nyuyki KD, Beiderbeck DI, Lukas M, et al. Chronic subordinate colony (CSC) housing as a model of chronic psychosocial stress in male rats [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e52371.
- [9] 骆晓芹,顾丹,姜欢欢.妇科肿瘤患者术前焦虑及护理干预[J].医药前沿,2012,2(4):248.
- [10] 徐华.成人重度烧伤的焦虑和抑郁状况分析及心理护理干预[J].护理实践与研究,2010,7(9):7-9.
- [11] 张亚林,赵靖平,杨德森,等.广泛性焦虑患者单胺递质、神经内分泌及免疫的动态观察[J].中华精神科杂志,2000,33(4):200-202.
- [12] 王振,肖泽萍,陈珏,等.焦虑症的生化病理机制探讨[J].临床精神医学杂志,2003,13(1):1-3.
- [13] 刘纓霞.豚鼠脾脏中的免疫反应性心房肽[J].广州医学院学报,1989,1(4):47.
- [14] 刘志诚,孙凤岷,孙志,等.针刺对肥胖大鼠下丘脑神经肽含量的影响[J].针刺研究,2004,29(1):43-48.
- [15] 刘伟,朱贤立,赵洪洋,等.损毁大鼠下丘脑室旁核后 AVP 和 ANP 的关系[J].中华神经外科疾病研究杂志,2005,4(5):415-418.
- [16] 马丽云,杨旭东,张墨玲,等.肾上腺皮质类固醇激素对肾上腺切除大鼠下丘脑心钠素含量的影响[J].中华内分泌代谢杂志,1992,8(4):33-35.
- [17] Vollmar AM, Lang RE, Hänze J, et al. The rat thymus—a site of atrial natriuretic peptide synthesis [J]. Peptides, 1990, 11(1): 33-37.
- [18] Ströhle A, Feller C, Strasburger CJ, et al. Anxiety modulation by the heart? Aerobic exercise and atrial natriuretic peptide [J]. Psychoneuroendocrinology, 2006, 31(9): 1127-1130.
- [19] Vollmar AM, Schulz R. Atrial natriuretic peptide is synthesized in the human thymus [J]. Endocrinology, 1990, 126(5): 2277-2280.
- [20] Vollmar AM, Wolf R, Schulz R. Co-expression of the natriuretic peptides (ANP, BNP, CNP) and their receptors in normal and acutely involuted rat thymus [J]. J Neuroimmunol, 1995, 57(1-2):

- 117-127.
- [21] Agui T, Xin X, Cai Y, et al. Opposite actions of transforming growth factor- β_1 on the gene expression of atrial natriuretic peptide biological and clearance receptors in a murine thymic stromal cell line[J]. *J Biochem*, 1995, 118(3): 500-507.
 - [22] Vollmar AM, Schmidt KN, Schulz R. Natriuretic peptide receptors on rat thymocytes: inhibition of proliferation by atrial natriuretic peptide[J]. *Endocrinology*, 1996, 137(5): 1706-1713.
 - [23] Vollmar AM, Schulz R. Evidence for the presence of ANP-precursor material in the rat thymus[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988, 155(2): 700-708.
 - [24] Vollmar AM, Lang RE, Hänze J, et al. A possible linkage of atrial natriuretic peptide to the immune system[J]. *Am J Hypertens*, 1990, 3(5 Pt 1): 408-411.
 - [25] Kurihara M, Katamine S, Saavedra JM. Atrial natriuretic peptide, ANP(99-126), receptors in rat thymocytes and spleen cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1987, 145(2): 789-796.
 - [26] Vollmar AM. Influence of atrial natriuretic peptide on thymocyte development in fetal thymic organ culture[J]. *J Neuroimmunol*, 1997, 78(1-2): 90-96.
 - [27] Vollmar AM, Schulz R. Dexamethasone action on rat thymic atrial natriuretic peptide[J]. *Endocrinology*, 1990, 127(6): 3240-3242.
 - [28] 具紫勇, 杨华元, 何金森. 仿真针刺对不同强度运动训练大鼠心脏内分泌功能的影响[J]. *河南中医学院学报*, 2009, 24(2): 20-22.
 - [29] 陈昌华, 李炜, 钟广伟, 等. 针刺肝胆经腧穴对偏头痛模型鼠血浆神经降压素和心钠素的影响[J]. *中国针灸*, 2004, 24(1): 63-64.
 - [30] 卢咏梅, 张宏. 电针对大强度运动应激大鼠细胞免疫的影响[J]. *针刺研究*, 2012, 37(2): 136-139.
 - [31] 李红, 朱梅菊, 高顺生. 针灸足三里穴对小鼠运动能力及部分免疫指标的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2004, 23(1): 42-45.
 - [32] 方鸿. 针刺对免疫器官结构的影响[J]. *中医药动态*, 1994, (2): 27-28.
 - [33] Bondi CO, Rodriguez G, Gould GG, et al. Chronic unpredictable stress induces a cognitive deficit and anxiety-like behavior in rats that is prevented by chronic antidepressant drug treatment[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33(2): 320-331.
 - [34] Roman O, Seres J, Pometlova M, et al. Neuroendocrine or behavioral effects of acute or chronic emotional stress in Wistar Kyoto (WKY) and spontaneously hypertensive (SHR) rats[J]. *Endocr Regul*, 2004, 38(4): 151-155.
 - [35] 余曙光, 徐斌主编. 实验针灸学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 274-275.
 - [36] 李宁, 唐启盛, 赵瑞珍, 等. 慢性焦虑应激大鼠行为学的变化及高架十字迷宫的测评[J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(4): 711-713.
 - [37] 周奇志, 彭晓华, 吴巧凤, 等. 电针对焦虑大鼠室旁核促肾上腺皮质激素释放激素及其 I 型受体 mRNA 表达的影响[J]. *针刺研究*, 2008, 33(6): 372-376.
 - [38] 徐海洋, 周奇志, 王薇, 等. 电针对慢性情绪应激焦虑模型大鼠行为学影响的研究[J]. *四川中医杂志*, 2007, 25(5): 97-99.
 - [39] 罗伟君, 罗英华. 针刺背俞穴对慢性疲劳大鼠免疫功能影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2012, 14(7): 113-115.
 - [40] 杨宁波, 吴爱勤, 陈文, 等. 慢性心理应激小鼠胸腺免疫细胞凋亡损伤的研究[J]. *中国行为医学科学*, 2006, 15(11): 986-988.
 - [41] Zhang X, Okutsu M, Kanemi O, et al. Repeated stress suppresses interferon-gamma production by murine intestinal intraepithelial lymphocytes[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2005, 206(3): 203-212.
 - [42] 汪军, 孙静, 王彦青, 等. 电针对创伤应激大鼠胸腺细胞凋亡的影响[J]. *针刺研究*, 2006, 31(1): 12-15.
 - [43] Wann BP, Audet MC, Anisman H. Impact of acute and chronic stressor experiences on heart atrial and brain natriuretic peptides in response to a subsequent stressor[J]. *Horm Behav*, 2010, 58(5): 907-916.
 - [44] Wann BP, Audet MC, Gibb J, et al. Anhedonia and altered cardiac atrial natriuretic peptide following chronic stressor and endotoxin treatment in mice[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2010, 35(2): 233-240.
 - [45] Chen L, He XZ, Liu QM. Neuroendocrine mechanisms of left ventricular dysfunction stimulated by anger stress in rats with atherosclerosis—a putative role of natriuretic peptide[J]. *As Pac J Trop Med*, 2014, 7(1): 48-54.

(收稿: 2014-11-06 修回: 2015-12-08)