

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.10.003

## 电针复合七氟烷麻醉对断尾大鼠急性应激反应调控的影响\*

胡越<sup>1</sup>, 刘莉<sup>2</sup>, 熊威威<sup>3</sup>, 谭毅<sup>3</sup>, 黄志华<sup>3</sup>, 李爱国<sup>3</sup>, 杨华<sup>4</sup>, 蒋奕红<sup>3△</sup>

(1. 桂林医学院研究生院, 广西桂林 541001; 2. 湖北省武汉市第三医院麻醉科 430000;

3. 桂林医学院附属医院麻醉科, 广西桂林 541001; 4. 桂林医学院附属医院中医科, 广西桂林 541001)

**[摘要]** **目的** 探讨不同穴位电针刺激复合七氟烷麻醉对断尾大鼠急性应激反应调控作用的影响。**方法** 健康成年雄性 SD 大鼠 50 只, 体质量 280~320 g, 分为正常组(I 组)、模型组(II 组)、七氟烷吸入组(III 组)、七氟烷吸入加体针组(IV 组)和七氟烷吸入加耳针组(V 组), 每组 10 只。I 组不作处理置于氧流量 30% 的混合气体玻璃箱中(流量 2 L/min), II 组断尾后置于氧流量 30% 的混合气体玻璃箱中(流量 2 L/min), III、IV、V 组断尾后置于含体积分数为 2% 的七氟烷麻醉箱中(流量 2 L/min), IV 组持续刺激双侧“足三里”穴 30 min(刺激参数 3 V, 3 Hz, 2 ms), 共 4 次, 每次间隔 30 min, V 组刺激双侧“耳尖”穴, 刺激参数及时间同 IV 组。各组治疗方法结束后, 处死各组大鼠, 取断颈血采用 ELISA 测促肾上腺皮质激素(ACTH)和外周血皮质酮(CORT)水平。采用 Western blot 法测定下丘脑组织 c-fos 蛋白的表达水平。**结果** 与 I 组相比, II 组血清 ACTH、CORT 水平、下丘脑 c-fos 蛋白表达明显升高( $P < 0.01$ ); 与 II 组相比, III、IV、V 组大鼠外周血 ACTH、CORT 水平均有所下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); III 组与 IV 组的 ACTH 和 CORT 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); V 组的 ACTH 水平与 III 组相比明显下降( $P < 0.05$ ), V 组 CORT 水平与 IV 组相比明显下降( $P < 0.05$ )。III、IV、V 组 c-fos 表达与 II 组相比均降低( $P < 0.05$ ), III、IV、V 组 3 组组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 七氟烷吸入复合电刺激“耳尖”穴治疗时, 对应激的作用优于单纯的七氟烷治疗和七氟烷复合电刺激“足三里”穴。电针复合吸入全身麻醉对应激的调控机制可能与下丘脑调节室旁核 c-fos 蛋白分泌并影响下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴有关。

**[关键词]** 应激; 电针; 原癌基因蛋白质 c-fos; 七氟烷; 耳针**[中图分类号]** R245.97; R614**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)10-1306-03

## Effect of electro-acupuncture combined with sevoflurane anesthesia on regulation of acute stress response in docked tails rats\*

Hu Yue<sup>1</sup>, Liu Li<sup>2</sup>, Xiong Weiwei<sup>3</sup>, Tan Yi<sup>3</sup>, Huang Zhihua<sup>3</sup>, Li Aiguo<sup>3</sup>, Yang Hua<sup>4</sup>, Jiang Yihong<sup>3△</sup>

(1. Graduate School, Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China; 2. Department of Anesthesiology, Third Hospital of Wuhan City, Wuhan, Hubei 430000, China; 3. Department of

Anesthesiology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China; 4. Department of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of electro-acupuncture combined with sevoflurane anesthesia on the regulation of acute stress response in docked tails rats. **Methods** Fifty male SD rats weighing 280—320 g were randomly divided into 5 groups ( $n=10$  each): normal group (group I), model group (group II), sevoflurane group (group III), sevoflurane inhalation combined with body acupuncture group (group IV) and sevoflurane combined with auricular acupuncture group (group V). The group I was placed in a glass box containing mixture gas with oxygenflow of 30% (flow 2 L/min) without treatment, the group II after docking tail was placed in a glass box containing mixture gas with oxygenflow of 30% (flow 2 L/min), the group III, IV and V were placed in the 2% sevoflurane anesthesia box (flow 2 L/min), the group IV was given continuous stimulation at Zusanli (stimulation parameters: 3 V, 3 Hz, 2 ms) for 30 min per time, 4 times at intervals of 30 min, the group V was given the stimulation at Erjian with the same stimulation parameters as the group IV. Rats in each group were killed after treatment and the blood at broken neck was collected for measuring serum corticosterone (CORT) and adrenocorticotropic hormone (ACTH) levels by ELISA. The c-fos protein expression level in hypothalamic tissue was detected by Western blot. **Results** Compared with the group I, serum ACTH, CORT levels, hypothalamic expression of c-fos protein in the group II were significantly increased ( $P < 0.01$ ), compared with the group II, the peripheral blood ACTH, CORT levels were decreased with statistical difference ( $P < 0.05$ ); the ACTH, CORT levels had no statistical difference between the group III and IV ( $P > 0.05$ ); the ACTH level in the group V was significantly decreased compared with the group III ( $P < 0.05$ ) and the CORT level in the group V was also decreased when compared with the group IV ( $P < 0.05$ ). The c-fos expression in the group III, IV and V were decreased compared with the group II ( $P < 0.05$ ), there were significant difference among the group III, IV and V ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** In the treatment of sevoflurane inhalation anesthesia combined with compound electrostimulation at Erjian, its effect on stress response is superior to simple sevoflurane treatment and sevoflurane combined with compound electrostimulation at Zusanli. The regulation mechanism of electro-acupuncture combined with inhalation general anesthesia on stress may be related with hypothalamus regulating paraventricular nucleus c-fos protein secretion and affecting the HPA axis.

**[Key words]** stress; electroacupuncture; proto-oncogene proteins c-fos; sevoflurane; auricular acupuncture

应激(stress)是机体对各种刺激产生的一些非特异性反应。机体主要是通过下丘脑-垂体-肾上腺皮质(HPA)轴分泌的应激激素来调节并完成对应激的适应。HPA 多以外周血中促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质酮(CORT)水平变化作为应激调控的外周指标<sup>[1]</sup>,以 c-fos 蛋白作为中枢调控应激的敏感因子<sup>[2]</sup>。研究表明,电针复合全身麻醉可降低肺切除患者围术期的应激反应<sup>[3]</sup>,电针复合颈丛阻滞也能显著降低甲状腺患者围术期的应激反应<sup>[4]</sup>。临床应用多以体针复合麻醉,而实际操作中体针多受手术操作及体位的局限,而耳针不仅操作灵活且便于术中管理。但目前耳针复合麻醉对应激的调控作用不明。本研究通过对外周血清 ACTH、CORT 水平和下丘脑 c-fos 蛋白表达的变化,探讨电针体穴和耳穴复合全身麻醉对断尾大鼠应激反应的影响,为临床应用提供参考。

## 1 材料与与方法

**1.1 实验动物** 取 50 只成年雄性 SD 大鼠(桂林医学院动物实验中心提供),体质量 280~320 g,按照昼夜节律性饲养,即在 12 h 光照和 12 h 黑暗的条件下喂养,自由摄食和饮水。动物在实验环境中适应 1 周后进行正式实验。

**1.2 试剂及仪器** 大鼠 ACTH、CORT ELISA 试剂盒(华美 Cusabio 公司),兔抗人多克隆 c-fos 抗体(1:1 000, Santa Cruz 公司),山羊抗兔辣根标记二抗(1:5 000)、山羊抗小鼠辣根标记二抗(1:5 000)、DAB(Sigma 公司),鼠抗  $\beta$ -actin(1:1 000,中杉金桥公司),SAB 试剂盒(武汉博士德生物技术公司)。仪器:华佗牌 SDZ-II 型电子针仪(苏州医疗用品厂生产),Bio-Rad 蛋白电泳系统、Bio-Rad 电转膜仪、七氟烷挥发罐(Datex-Ohmeda 公司),ALC-V8 动物呼吸机(上海奥尔特生物科技有限公司),麻醉气体监护仪(Datex-Ohmeda),IPP6.0 凝胶成像系统。

## 1.3 方法

**1.3.1 动物分组** 采用随机数字表法分为 5 组,分别为正常组(I组)、模型组(II组)、七氟烷吸入组(III组)、七氟烷吸入加体针组(IV组)和七氟烷吸入加耳针组(V组),每组 10 只。

**1.3.2 急性应激模型制备** 大鼠常规饲养,除 I 组外各组大鼠采用低位尾干切断(ICTR)的方法模拟急性应激,即用鼠笼固定大鼠后,在靠近尾端的尾干处(S3 和 S4 脊髓神经之间)横切。

**1.3.3 处理方法和取材** 参照 Lee 等<sup>[5]</sup>的方法,III、IV、V 组大鼠均通入体积分数 2% 的七氟烷气体。将大鼠放入体积约为 30 cm×20 cm×20 cm 的玻璃麻醉箱中,箱底铺满石灰,用 Ohmeda 挥发罐给予七氟烷行麻醉诱导和维持, Datex 麻醉气体监护仪与气管导管连接,用于监测呼气末七氟烷水平,使箱内七氟烷的水平维持在 2%,再将大鼠置入玻璃箱。对 IV 组和 V 组进行电针刺激治疗,在翻正反射消失后,将大鼠从七氟烷麻醉箱中迅速拿出,接上电针后立即放回麻醉箱中。按照《实验针灸学》<sup>[6]</sup>进行取穴:IV 组取“足三里”对应大鼠的后三里位于膝关节后外侧腓骨小头下约 5 mm 处胫腓骨间,直刺 7 mm,给予“疏密波”,参数设置为 3 V, 3 Hz, 2 ms<sup>[7]</sup>。取穴完成后,迅速放回体积分数维持在 2% 的七氟烷麻醉箱中,电针刺激 30 min 1 次,每 2 次间隔 30 min,共 4 次电刺激治疗。V 组在“耳尖”穴:位于耳尖后缘,针刺时沿耳廓横刺 2 mm,各项刺激参数、持续时间同 IV 组。处理结束时,各组大鼠断颈取血 5 mL,随后取下丘脑组织置于液氮中,以备检测以下指标。

**1.3.4 血清 ACTH、CORT 水平的检测** 血样加入不凝管中,在常温下静置 2 h 后,4℃, 3 500 r/min,离心 15 min,取上清液-20℃保存,采用 ELISA 试剂盒检测 ACTH 和 CORT

水平,严格按照试剂盒说明操作。

**1.3.5 下丘脑组织 c-fos 蛋白水平测定** 待测时将组织从液氮中取出,用液氮研磨并裂解后,提取蛋白质,进行蛋白定量,用 Western blot 法检测下丘脑组织 c-fos 蛋白的变化。按 5  $\mu$ g/mL 的比例将组织裂解液加入到下丘脑组织内,匀浆后,12 000 r/min 离心吸取上清液测定总蛋白含量(BCA 蛋白测定法)。取 40  $\mu$ g 蛋白质,加热变性后,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白,用电转膜仪(Bio-Rad)将凝胶上的蛋白质转印到聚二偏氟乙烯(PVDF)膜上,用含 10% 脱脂奶粉和 0.1% Tween-20 的 Tris 缓冲液(TBST)常温封闭 60 min,然后进行免疫杂交反应。首先加入 1:1 000 的兔来源的 c-fos 抗体(Santa Cruz 公司),4℃孵育过夜。用新鲜配制的 TBST 洗涤后,加入山羊抗兔抗体二抗,抗体滴度为 1:5 000,室温孵育 78 min。用 TBST 洗涤后,在暗室内加增强化学发光剂(West Pico),压 X 线片(柯达)。同一 Western 杂交膜显示 c-fos 条带后,用 TBST 洗涤 PVDF 膜 30 min,然后用同样的方法显示  $\beta$ -actin 条带,以此作为加样的内参照。X 线片上的条带经凝胶成像系统读其灰度值,并进行定量。以 c-fos 条带灰度值/ $\beta$ -actin 条带灰度值来纠正上样量的偏差。用灰度比值的高低表示 c-fos 蛋白水平的多少。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS16.0 软件进行数据分析,正态分布计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析;偏态分布资料,方差不齐,以中位数(四分位数间距)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示,组间比较采用非参数秩和检验,进行秩转换后用 LSD 法进一步两两比较,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组外周血清 ACTH、CORT 水平比较** 与 I 组相比,II、III、IV、V 组血清 ACTH、CORT 水平明显升高( $P<0.01$ )。与 II 组相比,III、IV、V 组 ACTH、CORT 水平均有不同程度下降( $P<0.05$ )。III 组与 IV 组的 ACTH 和 CORT 水平差异无统计学意义( $P>0.05$ );而 V 组的 ACTH 水平与 III 组相比明显下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),V 组的 CORT 水平与 III 组相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。IV 组与 V 组相比,两组间 ACTH 水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但 CORT 水平 V 组较 IV 组低( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 各组大鼠血清 ACTH、CORT 水平比较  
( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	ACTH(pg/mL)	CORT(ng/mL)
I 组	32.65±6.40	73.37±9.28
II 组	77.78±10.18 <sup>a</sup>	135.01±17.32 <sup>a</sup>
III 组	50.62±5.18 <sup>ab</sup>	107.95±14.99 <sup>ab</sup>
IV 组	48.60±5.26 <sup>ab</sup>	92.11±6.11 <sup>ab</sup>
V 组	43.95±7.24 <sup>abc</sup>	81.53±5.74 <sup>abd</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.01$ ,与 I 组比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与 II 组比较;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与 III 组比较;<sup>d</sup>: $P<0.05$ ,与 IV 组比较。

**2.2 各组下丘脑组织 c-fos 蛋白表达情况** I 组 c-fos 表达很少,断尾应激后,II 组 c-fos 表达明显上调( $P<0.01$ ),与 II 组相比,III、IV、V 组 c-fos 表达减少( $P<0.01$ );与 III 组比较,IV、V 组的 c-fos 表达均下调( $P<0.01$ );IV、V 组间表达有差异,且 V 组表达低于 IV 组( $P<0.01$ ),见图 1、表 2。

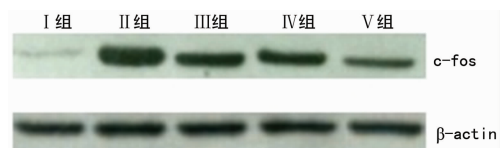


图 1 各组下丘脑 c-fos 蛋白 Western 印记 X 线片显影结果

表 2 各组下丘脑组织 c-fos 蛋白表达的比较[M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)]

组别	n	c-fos 蛋白表达
I 组	10	0.16(0.15, 0.18)
II 组	10	1.91(1.89, 1.92) <sup>a</sup>
III 组	10	1.13(1.12, 1.14) <sup>ab</sup>
IV 组	10	1.02(1.00, 1.04) <sup>abc</sup>
V 组	10	0.66(0.60, 0.73) <sup>bcd</sup>

<sup>a</sup>: P<0.01, 与 I 组比较; <sup>b</sup>: P<0.01, 与 II 组比较; <sup>c</sup>: P<0.01, 与 III 组比较; <sup>d</sup>: P<0.01, 与 IV 组比较。

### 3 讨 论

本研究参照 Xu 等<sup>[8]</sup>采取低位尾干切断的方法制造急性创伤性应激的模型, 操作简便且模型效果显著。有研究证实<sup>[9]</sup>, 电针“足三里”可通过抑制下丘脑神经元进而调整 HPA 轴功能异常, 以减轻急性创伤大鼠术后应激。同时, 电针大鼠“耳尖”穴对慢性应激也有一定的调控作用<sup>[10]</sup>。固选取“足三里”和“耳尖”复合全身麻醉进行效果对比。

c-fos 蛋白的表达被广泛认为是神经元兴奋的标志<sup>[11]</sup>。在非应激的基础状态, 脑部 c-fos 表达水平很低; 由张云东等<sup>[12]</sup>的研究结果可知, 创伤后应激早期下丘脑 c-fos 快速表达, 但促肾上腺素释放激素(CRH)的表达迟于 c-fos 的表达过程, 说明创伤应激反应中下丘脑早期表达的 c-fos 可能起激活 CRH 基因表达的作用。并有研究表明<sup>[13]</sup>, 急性疼痛应激传入后, 激活下丘脑室旁核(PVN)c-fos mRNA 转录, 表达 c-fos 蛋白, 并作为第 3 信使与 CRH mRNA 位点结合激活 CRH mRNA 转录, 使下丘脑释放 CRH 至垂体并入血, 从而启动 HPA 轴。本研究结果显示, 断尾给予的急性刺激后, 外周血中血清 ACTH 和 CORT 水平显著升高, 且下丘脑 c-fos 表达升高, 即急性应激模型制备成功, 随后在给予电针加七氟烷吸入后, c-fos 表达降低, 可能的机制为电针复合七氟烷作用后大鼠下丘脑激活的 c-fos 神经元减少, 则转录合成的 CRH 也随之减少。因此, CRH 激活 HPA 轴后释放入血的 ACTH 水平也随之降低, ACTH 刺激肾上腺皮质释放的 CORT 也同时减少。有实验证实<sup>[14]</sup>, 电针“百会”“神门”等穴可下调血清 CORT 和 ACTH 水平, 作用机制可能与电针调节 HPA 轴的功能有关; 临床上将电针复合七氟烷麻醉用于神经外科手术中, 也验证了电针复合麻醉作用对术后早期镇痛和恢复有良好的效果<sup>[15]</sup>。在本实验中, 电针复合七氟烷全身麻醉作用后, 升高的外周血清 ACTH 和 CORT 水平均有不同程度的回落, 即证实了电针联合七氟烷吸入全身麻醉对应激的调控作用是有效的, 而各治疗组大鼠的下丘脑 c-fos 蛋白表达降低证实下丘脑调控 HPA 轴跟通过减少 c-fos 蛋白表达有关。

实验中发现, IV 与 V 组作用效果比较时, V 组对应激下调的作用强于 IV 组, 即电刺激“耳尖”穴复合七氟烷麻醉对断尾应激的调控优于电刺激体穴“足三里”复合七氟烷全身麻醉。相比于体穴, 耳部有丰富的迷走神经分布。应激传入兴奋交感神经启动 HPA 轴, 电针刺激耳穴时, 一方面可以通过下丘脑系统调节交感神经和副交感神经的平衡, 兴奋迷走胆碱能神经纤维抑制交感肾上腺素能作用, 调节激素水平变化<sup>[16]</sup>; 另一方面能通过激活镇痛机制, 抑制痛觉信号传递, 达到镇痛作用从而降低疼痛诱发的应激反应<sup>[17]</sup>。多途径多系统的参与可能是耳穴复合七氟烷全身麻醉作用优于体穴的原因。

总之, 电针复合七氟烷麻醉法对急性应激的调控有明确效果, 其机制与 PVN 分泌 c-fos 蛋白有关, 耳针复合七氟烷比体针复合七氟烷的调控作用效果好。电针复合药物麻醉应用于临床时, 不仅可以有效减轻围麻醉期应激反应的作用, 还对预

术后疼痛及术后恶心呕吐等术后并发症的发生有显著作用<sup>[18]</sup>, 值得临床大力推广。

### 参考文献

- [1] Romeo RD, Karatsoreos IN, McEwen BS. Pubertal maturation and time of day differentially affect behavioral and neuroendocrine responses following an acute stressor[J]. *Horm Behav*, 2006, 50(3):463-468.
- [2] Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress[J]. *J Psychosom Res*, 2002, 53(4):865-871.
- [3] 马文, 朱余明, 周红, 等. 针药复合麻醉中不同频率电针对肺切除患者应激反应的保护作用[J]. *世界针灸杂志*, 2012, 22(3):24-30.
- [4] 张彩举, 杨帆, 李熳. 电针复合颈丛阻滞对甲状腺手术患者应激反应的影响[J]. *针刺研究*, 2013, 38(1):1-6.
- [5] Lee HT, Ota-Setlik A, Fu Y, et al. Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury in vivo[J]. *Anesthesiology*, 2004, 101(6):1313-1324.
- [6] 余曙光. 实验针灸学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009:112-121.
- [7] Liu JH, Yan J, Yi SX, et al. Effects of electroacupuncture on gastric myoelectric activity and substance P in the dorsal vagal complex of rats[J]. *Neurosci Lett*, 2004, 356(2):99-102.
- [8] Xu B, Descalzi G, Ye HR, et al. Translational investigation and treatment of neuropathic pain[J]. *Mol Pain*, 2012, 8(1):1-8.
- [9] 朱黎婷, 田占庄. 电针对急性手术创伤大鼠下丘脑及海马促肾上腺皮质激素释放因子表达的影响[J]. *针刺研究*, 2013, 38(5):369-374.
- [10] Liu RP, Fang JL, Rong PJ, et al. Effects of electroacupuncture at auricular concha region on the depressive status of unpredictable chronic mild stress rat models[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013:789674.
- [11] Hsieh KC, Gvilia I, Kumar S, et al. c-Fos expression in neurons projecting from the preoptic and lateral hypothalamic areas to the ventrolateral periaqueductal gray in relation to sleep states[J]. *Neuroscience*, 2011, 188:55-67.
- [12] 张云东, 朱佩芳, 王正国, 等. 大鼠严重创伤后早期下丘脑 c-fos 和 CRH mRNA 的表达[J]. *第三军医大学学报*, 2003, 25(11):965-967.
- [13] Windle RJ, Kershaw YM, Shanks N, et al. Oxytocin attenuates stress-induced c-fos mRNA expression in specific forebrain regions associated with modulation of hypothalamo-pituitary-adrenal activity[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(12):2974-2982.
- [14] 乔瑞瑞, 燕平, 刘明菲, 等. 电针“百会”“神门”“太冲”穴对慢性应激抑郁模型大鼠血清 ACTH、CORT 的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2014, 9(2):156-158.
- [15] 安立新, 陈雪, 李锦, 等. 经皮穴位电刺激及电针对幕上肿瘤切除术患者术后恢复及镇痛的影响[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2013, 19(2):66-70.

床分期、骨损害程度及治疗效果存在相关性。应用 NSE 处理 OLC, TRAP mRNA 转录水平的表达上调,提示 NSE 促进 OLC 的分化和增殖;NSE 具有 U266 细胞对 OLC 的类似作用;推测 NSE 可能通过细胞代谢或作为营养因子起作用,但是否有其他某种方式的参与尚不清楚,目前国内外亦无这方面研究的报道,值得进一步探讨。

#### 参考文献

- [1] Irisawa H. Bone disease in multiple myeloma[J]. *Nihon Rinsho*, 2015, 73(1):42-46.
- [2] Delgado-Calle J, Bellido T, Roodman GD. Role of osteocytes in multiple myeloma bone disease[J]. *Curr Opin Support Palliat Care*, 2014, 8(4):407-413.
- [3] Wittrant Y, Theoleyre S, Chipoy C, et al. RANKL/RANK/OPG; new therapeutic targets in bone tumours and associated osteolysis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1704(2):49-57.
- [4] Heider U, Langelotz C, Jakob C, et al. Expression of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand on bone marrow plasma cells correlates with osteolytic bone disease in patients with multiple myeloma[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(4):1436-1440.
- [5] Tanaka S, Nakamura K, Takahashi N, et al. Role of RANKL in physiological and pathological bone resorption and therapeutics targeting the RANKL-RANK signaling system[J]. *Immunol Rev*, 2005, 208:30-49.
- [6] Silvestris F, Lombardi L, de Matteo M, et al. Myeloma bone disease: pathogenetic mechanisms and clinical assessment[J]. *Leuk Res*, 2007, 31(2):129-138.
- [7] Giuliani N, Bataille R, Mancini C, et al. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment[J]. *Blood*, 2001, 98(13):3527-3533.
- [8] Husheem M, Nyman JK, Vaaraniemi J, et al. Characterization of circulating human osteoclast progenitors: development of in vitro resorption assay[J]. *Calcif Tissue Int*, 2005, 76(3):222-230.
- [9] Takamura S, Teraki Y. Case of clear cell sarcoma in the left buttock in which serum neuron-specific enolase was a useful marker for monitoring disease progression[J]. *J Dermatol*, 2015, 42(6):621-624.
- [10] Fujiwara H, Arima N, Ohtsubo H, et al. Clinical significance of serum neuron-specific enolase in patients with adult T-cell lymphoma[J]. *Am J Hematology*, 2002, 71(2):80-84.
- [11] Yang HP, Mi RH, Wang Q, et al. Expression of neuron-specific enolase in multiple myeloma and implications for clinical diagnosis and treatment[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e94304.
- [12] Liu S, Otsuyama K, Ma Z, et al. Induction of multilineage markers in human myeloma cells and their down regulation by interleukin6[J]. *Int J Hematol*, 2007, 85(1):49-58.
- [13] Ely SA, Knowles DM. Expression of CD56/neural cell adhesion molecule correlates with the presence of lytic bone lesions in multiple myeloma and distinguishes myeloma from monoclonal gammopathy of undetermined significance and lymphomas with plasmacytoid differentiation[J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(4):1293-1299.
- [14] Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone Remodeling[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1092:385-396.
- [15] Asagiri M, Takayanagi H. The molecular understanding of osteoclast differentiation[J]. *Bone*, 2007, 40(2):251-264.
- [16] Raimondi L, De Luca A, Amodio N, et al. Involvement of multiple myeloma cell-derived exosomes in osteoclast differentiation[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(15):13772-13789.
- [17] Nicholson GC, Malakellis M, Collier FM, et al. Induction of osteoclasts from CD14-positive human peripheral blood mononuclear cells by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand(RANKL)[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2000, 99(2):133-140.
- [18] Sabokbar A, Athanasou NS. Generating human osteoclasts from peripheral blood[J]. *Methods Mol Med*, 2003, 80:101-111.
- [19] 黄红铭, 姜华, 张慧, 等. 外周血单个核细胞诱导培养破骨细胞[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2008, 28(1):10-13.
- [20] Silvestris F, Ciavarella S, De Matteo MA, et al. Bone-Resorbing cells in multiple myeloma: osteoclasts, myeloma cell polykaryons, or both? [J]. *Oncologist*, 2009, 14(3):264-275.
- [21] Nakashima T, Takayanagi H. New regulation mechanisms of osteoclast differentiation[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2011, 1240:E13-18.
- [22] 梁成, 孔凡元. 神经元特异性烯醇化酶检测与临床研究[J]. *宁夏医学院学报*, 2004, 26(2):129-131.
- [23] Haimoto H, Takahashi Y, Koshikawa T, et al. Immunohistochemical localization of gamma-enolase in normal human tissues other than nervous and neuroendocrine tissues[J]. *Lab Invest*, 1985, 52(3):257-263.
- [24] Li A, Lane WS, Johnson LV, et al. Neuron-specific enolase: a neuronal survival factor in the retinal extracellular matrix[J]. *J Neurosci*, 1995, 15(1):385-393.

(收稿日期:2015-12-15 修回日期:2016-01-22)

(上接第 1308 页)

- [16] La Marca R, Nedeljkovic M, Yuan L, et al. Effects of auricular electrical stimulation on vagal activity in healthy men: evidence from a three-armed randomized trial[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2010, 118(8):537-546.
- [17] Goertz CMH, Niemtzw R, Burns SM, et al. Auricular acupuncture in the treatment of acute pain syndromes: a pilot study[J]. *Mil Med*, 2006, 171(10):1010-1014.
- [18] 姚新宇, 杨华, 田小林, 等. 不同时机针刺经穴对直肠癌根治术患者术后恶心呕吐发生的影响: 血浆胃泌素水平的测定[J]. *中华麻醉学杂志*, 2012, 32(7):820-823.

(收稿日期:2015-11-18 修回日期:2015-12-28)