

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-05-0354-05

应激性血压升高对大鼠下丘脑肾上腺髓质素水平的影响

李霞¹, 李良², 樊明欣³, 王锦³, 沈霖霖³, 朱大年³, 洪震¹

(1 复旦大学附属华山医院神经内科, 上海市 200040; 2 南华大学公共卫生学院, 湖南省衡阳市 421001;

3 复旦大学上海医学院生理学与病理生理学系, 上海市 200032)

[关键词] 应激; 高血压; 肾上腺髓质素; 受体; 下丘脑

[摘要] 目的 探讨应激性血压升高对下丘脑肾上腺髓质素编码基因表达及水平的影响。方法 58只雄性SD大鼠随机分为对照组($n=23$)和应激组($n=35$), 应激组给予噪声或噪声加足底电击随机组合输出刺激制备应激性高血压动物模型。48只动物在实验第1、5、10、15天以及实验结束后5、10天测量尾动脉压后处死(每个时间点对照组和应激组分别为 $n=3$ 和 $n=5$), 分离下丘脑并制备组织匀浆后分别采用逆转录聚合酶链反应检测肾上腺髓质素编码基因表达变化, 放射免疫法检测肾上腺髓质素水平变化。另外10只在实验第10天后断头取下丘脑制备冰冻切片, 采用免疫组织化学法检测肾上腺髓质素免疫阳性细胞分布变化。结果 应激5天后动物血压开始明显升高, 15天达到高峰(156.3 ± 3.3 mmHg比 114.0 ± 2.6 mmHg $P < 0.01$), 应激结束10天血压仍维持在较高水平。与对照组相比较, 肾上腺髓质素编码基因 mRNA 表达在应激10天内逐渐上调(第5天 0.99 ± 0.05 比 0.92 ± 0.04 $P < 0.05$, 第10天 1.26 ± 0.04 比 0.92 ± 0.04 $P < 0.01$), 而后表达下调, 在应激第15天仍高于对照组(1.00 ± 0.04 比 0.92 ± 0.04 $P < 0.05$)。应激结束后5天表达仍高于对照组, 但差异无统计学意义; 与同时时间点对照组相比较, 肾上腺髓质素水平在应激10天内逐渐增加(第1天 1.25 ± 0.22 比 0.93 ± 0.19 $P < 0.05$, 第5天 1.69 ± 0.29 比 0.97 ± 0.21 $P < 0.01$; 第10天 2.00 ± 0.28 比 0.94 ± 0.24 $P < 0.01$)。应激组($n=5$)大鼠下丘脑室旁核区域肾上腺髓质素阳性细胞的光密度明显高于对照组($n=5$), 由正常的 110.21 ± 3.10 增加到 127.56 ± 3.50 ($P < 0.01$), 而其他区域无明显变化。结论 应激性血压升高过程中, 下丘脑肾上腺髓质素编码基因 mRNA 表达和肾上腺髓质素水平均发生相应变化, 尤其以室旁核明显, 提示下丘脑室旁核肾上腺髓质素可能通过维持血压平衡及内环境稳态参与应激致高血压发生的病理生理过程。

[中图分类号] R33

[文献标识码] A

The Changes of Adrenomedullin Level in the Hypothalamic of the Rats with Stress-induced Hypertension

LIXia¹, LILiang², FANMin-Xin³, WANGJin³, SHENLin-Lin³, ZHUDa-Nian³, and HONGZhen¹

(1 Department of Internal Neurology, Affiliated Huashan Hospital of Fudan University, Shanghai 200040 China; 2 School of Public Health, University of South China, Hengyang 421000 China; 3 Department of Physiology and Pathophysiology, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032 China)

[KEY WORDS] Stress; Hypertension; Adrenomedullin; Receptor; Hypothalamus

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the dynamic changes of adrenomedullin mRNA expression and its level in the hypothalamus of stress-induced-hypertensive rats. **Methods** 58 male SD rats were divided into control group ($n=23$) and stress group ($n=35$) receiving noise or noise with electric foot shock randomly combined and output by a computer for 15 days. 48 rats were executed and their hypothalamus were separated to monogenate individually at stress 1, 5, 10 and 15 days and post-stress 5 and 10 days (for each subgroup $n=3$ or $n=5$). The changes of the adrenomedullin mRNA expression were determined by reverse transcription-polymerase chain reaction method. The levels of adrenomedullin were examined by radioimmunoassay. Another 10 rats were divided into the control group ($n=5$) and the stress group receiving stress for 10 days to detect the immunoreactive changes in hypothalamus with immunohistochemistry method. **Results** After stress for 5 days, the artery pressure significantly increased and reached a peak on 15th day (156.3 ± 3.3 mmHg vs 114.0 ± 2.6 mmHg $P < 0.01$). The artery pressure significantly increased. Even post-stress for 10 days, the artery pressure still kept at high level. Compared with the control group at each time point, ADM mRNA expression in the hypothalamus up-regulated with in 10 days (day 5, 0.99 ± 0.05 vs 0.92 ± 0.04 $P < 0.05$; day 10, 1.26 ± 0.04 vs 0.92 ± 0.04 $P < 0.01$), and then downregulated, but still kept at a high level at 15 days (1.00 ± 0.04 vs 0.92 ± 0.04).

[收稿日期] 2009-02-12 [修回日期] 2009-05-10

[基金项目] 国家“973”基金项目(2006CB504509)

[作者简介] 李霞, 博士后, 研究方向为神经源性心、脑保护作用, E-mail为 lixia@hua@ yahoo.com.cn; 李良, 硕士, 副教授, 研究方向为心血管神经生理, E-mail为 toliliang@163.com; 樊明欣, 博士, 研究方向为神经解剖, E-mail为 mingxin.fan@163.com。通讯作者朱大年, 联系电话为 021-54237610, E-mail为 dnzhu@shmu.edu.cn。

$P < 0.05$). ADM levels increased within 10 days compared with control group (day 1, 1.25 ± 0.22 vs 0.93 ± 0.19 , $P < 0.05$; day 5, 1.69 ± 0.29 vs 0.97 ± 0.21 , $P < 0.01$; day 10, 2.00 ± 0.28 vs 0.94 ± 0.24 , $P < 0.01$), then decreased to the levels of the control group. With immunohistochemistry method, detected adrenomedullin immunoreactive neurons significantly strengthened in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the stress group compared with the control group (110.21 ± 3.10 vs 127.56 ± 3.50 , $P < 0.01$). **Conclusion** The results suggested that footshock and noise stress for a longer time induced a significant increase in blood pressure, while adrenomedullin mRNA and levels significantly increased in hypothalamus, especially in the paraventricular nucleus of the hypothalamus, indicating that ADM in the hypothalamus might involve in the pathophysiological process of the development of stress-induced hypertension.

高度紧张应激是现代化快节奏工作、生活环境导致高血压、冠心病及心律失常等心血管疾病发病率上升的重要原因。长期精神紧张后,中枢交感兴奋性增强,使血管张力持续增加以及下丘脑-腺垂体-肾上腺功能轴活动增强是应激导致高血压发病的一个重要影响因素^[1-3]。机体的重要防御反应及植物神经高级中枢-下丘脑中的多种神经递质如血管紧张素①、P物质、去甲肾上腺素等的含量及其基因表达的变化参与了应激性高血压的发生发展^[4-6]。肾上腺髓质素(ADM)广泛分布于植物神经调节中枢的相关核团,其中在下丘脑呈高拷贝表达^[7-10]。微量注射 ADM 到大鼠下丘脑室旁核(PVN)可经一氧化氮和 γ -氨基丁酸途径引起血压下降。脑室注射 ADM 可引起血浆促肾上腺皮质激素和糖皮质激素水平明显降低^[11-13]。提示下丘脑 ADM 参与血压和应激激素分泌的调节,可能与应激防御心血管反应和血压升高的病理过程有关。因此本研究拟通过观察应激性高血压过程中 ADM 基因表达及蛋白含量的动态变化,初步探讨长时间应激及血压持续升高对下丘脑 ADM 合成的影响及其可能的病理生理意义。

1 材料和方法

1.1 试剂

ADM 放射免疫试剂盒购自美国 Phoenix 公司;微量快速柱式组织总 RNA 抽提试剂盒购自上海生工生物工程有限公司;M-MLV 购自美国 Promega 公司;Oligo dT(18)和 dNTP 购自上海博亚公司;Taq 酶购自 MBI 公司;ABC 试剂盒购自美国 Vector 公司;3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)购自英国 BBI 公司;其他试剂购自上海试剂公司。PCR 引物由上海博亚生物公司合成。

1.2 实验动物

SD 雄性大鼠 58 只(中国科学院实验动物中心提供),体重 200~220 g,每 6 只同笼饲养,维持每天 12 h 正常光照,饲养 3 天后进行实验。

1.3 实验分组及取材

48 只动物随机分为对照组($n = 18$, 体重 191.5

± 6.2 g)和应激组($n = 30$, 体重 188.7 ± 6.3 g)。其中应激刺激第 1、5、10、15 天以及停止刺激后继续饲养 5、10 天的应激组动物各 5 只,相应时间点对照组动物各 3 只。在以上时间点实验结束并用尾套法测定动物尾动脉压后 2 h,将动物断头处死、取脑、切取下丘脑组织并平均分割为 2 份保存于低温冰箱,分别用于 RT-PCR 实验和 RIA 测定。另外选 10 只大鼠,随机分为对照组($n = 5$, 体重 190.5 ± 4.8 g)和应激组($n = 5$, 体重 187.9 ± 5.3 g)。对照组大鼠饲养 10 d 不接受应激刺激,应激组动物应激刺激 10 d。实验结束后,所有动物用乌拉坦与 α -氯醛糖混合麻醉后迅速打开胸腔,左心室插入 9 号灭菌针头,快速灌注 0.1% 肝素生理盐水 50 mL,同时剪开右心房引流血液和灌注的液体。随后先快后慢灌注 4% 多聚甲醛/PBS 液 300 mL。灌注完毕剪下大鼠头部并置于冰上,取脑并按照相应的解剖位置切取下丘脑。多聚甲醛、蔗糖后固定后干冰-丙酮-异戊烷速冻; -70°C 保存标本用于免疫组织化学检测。

1.4 应激性高血压大鼠模型制备

采用复旦大学医学院生理教研室自行研制的应激刺激系统,每天在计算机控制下随机组合、发放噪声(150~200 dB, 50 ms)或噪声加足底电击(方波 50~80 mV, 60 ms)刺激。应激组动物每天给予应激刺激 2 次,每次 2 h,间隔时间为 4 h。对照组动物在相同条件下饲养,不给予任何刺激。

1.5 尾套法测定大鼠尾动脉收缩压

在每天第二次应激结束后 2 h 尾套法测定清醒大鼠尾动脉收缩压,测定过程中将大鼠置于大鼠固定器中,加热使动物体温稳定于 $38^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$ 后,从记录仪监测、记录尾动脉收缩压。

1.6 逆转录聚合酶链反应检测下丘脑肾上腺髓质素编码基因表达

采用微量快速柱式组织总 RNA 抽提试剂盒 Trizol 法抽提下丘脑总 RNA。抽提下丘脑 RNA 样品 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值均在 1.8~2.0 之间, MOPS 变性凝胶电泳分析 RNA 完整。将抽提的总 RNA 进行逆转录反应成 cDNA。然后以此 cDNA 为模板进行聚合酶链反应扩增目的基因片段(GAPDH 为对照)。

ADM 上游引物为 5'-CCT GAT GTT ATT GGG TTC G-3', 下游引物为 5'-TGG CGG TAG CGT TTG ACT-3'。GAPDH 上游引物为 5'-CCA CAG TCC ATG CCA TCA-3', 下游引物为 5'-CCA CCA CCC GTT GCT GTA-3'。ADM 编码基因和 GAPDH 扩增产物长度分别为 268 bp 和 451 bp。聚合酶链反应参数为: 95℃预变性 5 min, 94℃变性 40 s → 55℃退火 40 s → 72℃延伸 40 s。扩增产物上样于 2% 琼脂糖凝胶 (含 0.5 mg/L 溴化乙啶), 100 V 电压下电泳, Tanon 紫外可见分析装置下拍照。采用 Tanon GIS2010 图像处理系统获得 GAPDH 和目的条带的平均积分光密度值, 以目的条带与 GAPDH 比值来显示基因表达的相对变化。

1.7 放射免疫法测定下丘脑肾上腺髓质素水平

下丘脑组织称重 50 mg 置于 1 mol/L 0.75 mL 冰醋酸中煮沸 20 min 后, 组织匀浆, 3 500 r/min × 20 min 离心, 取上清液 -70℃ 保存。待样品收集完毕, 干冰运至北京心血管研究所完成放射免疫测定。

1.8 免疫组织化学法检测下丘脑肾上腺髓质素免疫阳性细胞分布变化

在连续冰冻切片中, 每 10 张脑片取 1 张, 每只动物选取 5 张脑片, 每组 5 只动物共 25 张脑片, 按照武汉博士德公司 SABC 免疫组织化学试剂盒说明书步骤检测下丘脑 ADM 免疫阳性细胞分布及应激后的变化。阴性对照用 PBS 代替一抗进行孵育。阳性结果为细胞浆中出现棕黄色颗粒。实验获得的染色阳性切片经 Olympus BX5 显微镜 10 倍物镜采集图像, 各组选取的部位基本一致。图像采用 Image-pro Plus 5.0 分析系统计算单位面积内的光密度值。所得数据以光密度值代表阳性颗粒的强度。

1.9 统计学处理

多组间比较采用方差分析, 两组间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 应激引起的血压动态变化

随着足底电击和噪声应激时间的延长, 大鼠 SBP 在应激第 15 天达到高峰 (156.3 ± 3.3 mmHg), 与对照组 (114.0 ± 2.6 mmHg) 比较差异显著 ($P < 0.01$)。应激停止后 5 天大鼠 SBP 仍继续升高, 停止刺激 10 天后开始下降, 但仍明显高于正常对照组 ($P < 0.05$)。说明应激性高血压模型制备成功 (表 1)。

表 1 慢性应激过程中清醒大鼠尾动脉收缩压变化 ($\bar{x} \pm s$)

时 间	对照组	应激组
第 1 天	114.0 ± 2.6	129.3 ± 3.3 ^a
第 5 天	121.3 ± 5.2	145.4 ± 4.2 ^a
第 10 天	122.3 ± 4.6	148.9 ± 5.5 ^a
第 15 天	124.0 ± 6.8	156.3 ± 7.8 ^a
第 20 天	123.0 ± 7.1	161.1 ± 8.1 ^a
第 25 天	121.5 ± 5.8	152.1 ± 4.8 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.2 应激过程中下丘脑肾上腺髓质素编码基因表达的动态变化

应激组 ADM mRNA 表达在应激刺激过程中逐渐上调, 第 5 天高于对照组 (0.99 ± 0.05 比 0.92 ± 0.04 , $P < 0.05$), 第 10 天达高峰 (1.26 ± 0.04 比 0.92 ± 0.04 , $P < 0.01$)。而后表达下调, 在应激第 15 天仍高于对照组 (1.00 ± 0.04 比 0.92 ± 0.04 , $P < 0.05$); 应激结束后 5 天表达水平虽仍高于对照组, 但差异无统计学意义。

2.3 应激过程中下丘脑肾上腺髓质素水平的动态变化

与同时间点对对照组比较, ADM 水平在应激 10 天内逐渐增加 (第 1 天, 1.25 ± 0.22 比 0.93 ± 0.19 , $P < 0.05$; 第 5 天, 1.69 ± 0.29 比 0.97 ± 0.21 , $P < 0.01$; 第 10 天, 2.00 ± 0.28 比 0.94 ± 0.24 , $P < 0.01$)。在应激第 15 天以及应激结束后 5、10 天水平下降, 与对照组比较差异无显著性 (图 1)。

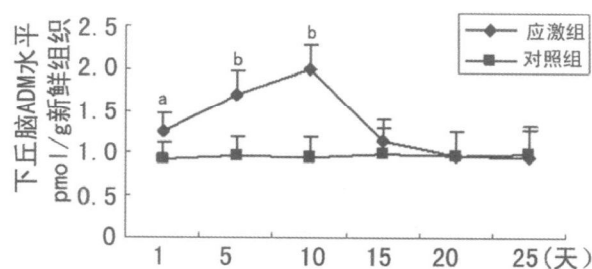


图 1 正常大鼠和应激高血压大鼠下丘脑肾上腺髓质素水平动态变化 a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.4 应激 10 天后下丘脑肾上腺髓质素免疫阳性细胞分布变化

ADM 阳性细胞呈现明显的棕黄色, 与背景对比明显。ADM 在下丘脑分布广泛, 应激 10 天后应激组大鼠下丘脑 PVN 区域 ADM 阳性细胞的光密度明显高于对照大鼠, 由正常的 110.21 ± 3.10 增加到

127.56 ± 3.50 ($P < 0.01$), 而其他区域无明显变化 (图 2 和图 3)。

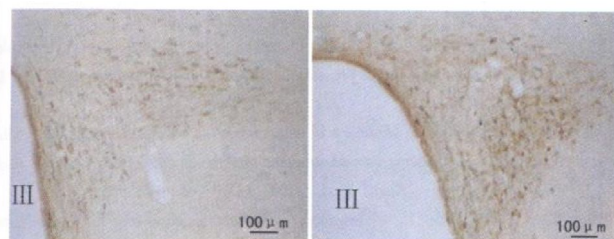


图 2. 下丘脑室旁核中肾上腺髓质免疫阳性细胞分布变化
左为对照组, 右为应激组, III 为第三脑室。

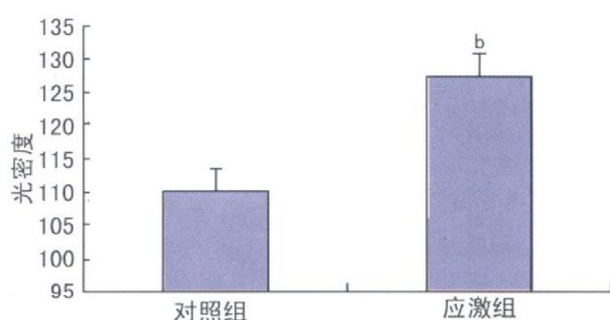


图 3. 正常大鼠和应激性高血压大鼠下丘脑室旁核区域肾上腺髓质免疫阳性细胞光密度变化
b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

3 讨论

在中枢神经系统, ADM 主要由脑内血管内皮细胞, 神经元、神经胶质细胞和血管平滑肌细胞等产生, 在丘脑和下丘脑的含量最高, 以自分泌或旁分泌方式参与血压、水钠代谢和神经内分泌系统功能的调节, 在维持内环境稳态方面发挥重要作用^[14-15]。

作者以往的工作表明, 大鼠接受噪声是电击随机组合刺激 15 d 引起血压升高的同时, 血浆儿茶酚胺、皮质酮以及血糖、血脂的平行升高, 是制备应激性高血压模型的一种有效手段^[16]。作者近期工作表明, 噪声、足底电击随机组合应激 15 d 内大鼠延髓、中脑、下丘脑、垂体和肾上腺 ADM 及其受体编码基因表达均有显著变化^[17-19]。在下丘脑, ADM 编码基因表达在应激 5 天后明显上调, 10 后达高峰, 而后表达下调。但编码大鼠 ADM 的 cDNA 有 1 293 kb 碱基序列, 可编码 185 个氨基酸, 而不是单一编码 ADM (50~52 个氨基酸)。转录翻译后的 185 个氨基酸, 即肾上腺髓质素前体原在内源性肽酶的作用下裂解为 5 个片段: 信号肽、肾上腺髓质素前体

原-N 端 20 肽、肾上腺髓质素前体原 (49-52)、ADM、肾上腺髓质素前体原 (153-185)。除信号肽外, 其他肽段均有各自独特的生物学特性^[7]。为进一步明确噪声、足底电击随机组合应激引起下丘脑 ADM 编码基因表达上调后, 是否主要以 ADM 合成释放增加为主, 而不是其他肽段。本实验采用敏感的放射免疫方法测定了不同应激时间下丘脑中 ADM 含量, 本实验结果表明: 应激 10 天内, 大鼠下丘脑 ADM 含量较对照组明显增加, 差异有统计学意义。尤其在应激第 10 d 最明显。提示噪声、足底电击随机组合应激引起血压明显升高的同时, ADM 编码基因表达上调并且转录后调控机制改变, 生成产物主要以 ADM 为主有关。但也不排除 ADM 水平在应激 10 d 内的明显升高可能也与 ADM 合成后释放减少有关。与此结果不同的是, Stachniak 等^[20]报道应用去氧肾上腺素使血压持续升高 6 h 后, 中枢 ADM 编码基因表达在各脑区无明显变化。这可能主要与不同病理状态下血压升高的机制差异有关。去氧肾上腺素主要是通过收缩外周阻力血管使血压升高, 而噪声、足底电击随机组合应激致高血压则主要与自主神经调节中枢神经递质改变、神经元活动异常导致交感输出增加有关。去甲肾上腺素可促进血管内皮内皮细胞分泌 ADM, 从而引起血管代偿性扩张。因此可能对中枢神经系统 ADM 编码基因影响较小。

为进一步明确噪声、足底电击随机组合应激过程中下丘脑 ADM 编码基因表达上调以及 ADM 含量升高的可能病理生理意义, 本研究选择 ADM 编码基因表达和 ADM 水平变化最明显的时间点-应激第 10 天, 通过免疫组织化学方法对应激组和对照组大鼠下丘脑 ADM 免疫阳性神经元分布进行了定位研究。作者发现, 连续应激 10 d 后应激组大鼠下丘脑室旁核 ADM 阳性免疫细胞数较对照组明显增加, 而在其他部位变化不显著。与本文结果相反, Shan 等^[21]应用短期束缚模型 (大鼠束缚应激 1 h 休息 1 h 而后再应激 1 h 休息 1 h) 观察到, 应激后下丘脑 PVN 中 ADM 表达减少 50%。而 Khan 等^[22]采用较短时间 (20 min) 束缚应激模型, 仅在下丘脑侧核发现 ADM 编码基因表达降低。这些结果差异可能与不同的应激方式和应激时间长短有关。提示不同应激状态下, ADM 在下丘脑发挥作用的核团以及病理生理意义不同。

文献报道, 侧脑室给予 ADM 后引起下丘脑视上核和室旁核 c-fos 基因表达上调, 同时一氧化氮 (nitric oxide NO) 的含量增加, 血浆 ACTH 和糖皮质

激素下降 55% ~ 58%^[13]。因 NO 在下丘脑主要是下位投射神经元的一种抑制性递质, 抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴, 使心血管基本中枢-延髓头端腹外侧区的神经元活动减弱, 交感输出下降。直接微量注射 ADM 到下丘脑室旁核可经 NO 和 γ -氨基丁酸途径引起明显的血压下降^[12]。因而, 作者采用噪声、足底电击随机组合应激引起血压升高后, 下丘脑 ADM 含量增加以及下丘脑 PVN 免疫阳性神经元增加可能与维持血压平衡及内环境稳态有关。

[参考文献]

- [1] Grundt A, Grundt C, Gorbey S, et al. Strain-dependent differences of restraint stress-induced hypertension in WKY and SHR [J]. *Physiol Behav*, 2009, **97** (3-4): 341-346
- [2] Gianaros PJ, Sheu LK, Remo AM, et al. Heightened resting neural activity predicts exaggerated stressor-evoked blood pressure reactivity [J]. *Hypertension*, 2009, **53** (5): 819-825
- [3] Savoca MR, Quandt SA, Evans CD, et al. Views of hypertension among young African Americans who vary in their risk of developing hypertension [J]. *Ethn Dis*, 2009, **19** (1): 28-34
- [4] Gasperin D, Netuveli G, Dias-da-Costa JS, et al. Effect of psychological stress on blood pressure increase: a meta-analysis of cohort studies [J]. *Cad Saude Publica*, 2009, **25** (4): 715-726
- [5] Shaikh MB, Steinberg A, Siegel A. Evidence that substance P is utilized in mediating facilitation of defensive rage behavior [J]. *Brain Res*, 1993, **625** (2): 283-294
- [6] Lu LM, Wang J, Yao T, et al. Changes in vasopressin V1 receptor mRNA level in rats with high blood pressure induced by chronic stress [J]. *Acta Physiol Sinica*, 1999, **51** (4): 471-476
- [7] Kitamura K, Sakata J, Kangawa K, et al. Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, **194** (2): 720-725
- [8] Owji AA, Smith DM, Coppock HA, et al. An abundant and specific binding site for the novel vasodilator adrenomedullin in the rat [J]. *Endocrinology*, 1995, **136** (5): 1227-1234
- [9] Oliver KR, Kane SA, Salvatore CA, et al. Cloning, characterization and central nervous system distribution of receptor activity modifying proteins in the rats [J]. *Eur J Neurosci*, 2001, **14** (4): 618-628
- [10] Serrano J, Utenthal LO, Martinez A, et al. Distribution of adrenomedullin-like immunoreactivity in the rat central nervous system by light and electron microscopy [J]. *Brain Res*, 2000, **853** (2): 245-268
- [11] Smith PM, Ferguson AV. Adrenomedullin acts in the rat paraventricular nucleus to decrease blood pressure [J]. *J Neuroendocrinol*, 2001, **13** (5): 467-471
- [12] Xu Y, Krukoff TL. Decrease in arterial pressure induced by adrenomedullin in the hypothalamic paraventricular nucleus is mediated by nitric oxide and GABA [J]. *Regul Pept*, 2004, **119** (1-2): 21-30
- [13] Shan J, Krukoff TL. Intracerebroventricular adrenomedullin stimulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: the sympathetic nervous system and production of hypothalamic nitric oxide [J]. *J Neuroendocrinol*, 2001, **13** (11): 975-984
- [14] Jougasaki M, Ichihara Bumett Jr, et al. Adrenomedullin: Potential in Physiology and Pathophysiology [J]. *Life Science*, 2002, **66** (10): 855-872
- [15] Nussdorfer GG, Rossi GP, Mazzocchi G. Role of Adrenomedullin and Related Peptides in the Regulation of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis [J]. *Peptide*, 1997, **18** (7): 1079-1089
- [16] 朱大年. 肾上腺皮质激素在应激性高血压发病中的中枢机制 [J]. 生理科学进展, 1996, **27** (4): 324-326
- [17] 李霞, 李良, 沈霖霖, 等. 应激性高血压大鼠脑干及下丘脑-垂体-肾上腺轴中肾上腺髓质素及其受体 mRNA 表达的改变 [J]. 生理学报, 2004, **56** (6): 723-729
- [18] 李良, 李霞, 胡弼, 等. 慢性应激刺激致高血压大鼠下丘脑肾上腺髓质素和降钙素受体样受体基因表达改变 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2004, **12** (3): 317-320
- [19] 李良, 李霞, 樊明欣, 等. 慢性应激刺激致高血压大鼠下丘脑肾上腺髓质素特异性受体组件基因表达变化 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, **15** (6): 401-404
- [20] Stachniak TJ, Krukoff TL. Receptor activity modifying protein 2 distribution in the rat central nervous system and regulation by changes in blood pressure [J]. *J Neuroendocrinol*, 2003, **15** (9): 840-850
- [21] Shan J, Krukoff TL. Distribution of preproadrenomedullin mRNA in the rat central nervous system and its modulation by physiological stressors [J]. *J Comp Neurol*, 2001, **432** (1): 88-100
- [22] Khan SM, Michaud D, Moody TW, et al. Effects of acute restraint stress on endogenous adrenomedullin levels [J]. *Neuroreport*, 1999, **10** (13): 2829-2833

(此文编辑 李小玲)