

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.15.002

镇惊温胆汤对 PTSD 模型大鼠 ORX 受体基因表达的调节作用 *

刘 燕[#] 高俊巧[#] 李 峰 周 芹 宋月晗[△]

(北京中医药大学中医学院 北京 100029)

摘要 目的: 研究镇惊温胆汤对创伤后应激障碍模型大鼠皮质边缘系统中食欲素(Orexin, ORX)受体 OX1R 和 OX2R 基因表达的调节以及血清中皮质酮和神经元特异性烯醇化酶的调节。**方法:** 采用单次延长应激法复制创伤后应激障碍(Post traumatic stress disorder, PTSD)模型大鼠,采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)技术分析大鼠脑中 OX1R 及 OX2R 的变化,采用酶联免疫吸附试验(Elisa)分析大鼠血清中皮质酮和神经元特异性烯醇化酶的变化。**结果:** 镇惊温胆汤组提高了前额叶皮质(PFC)及杏仁核(AMY)中 OX1R、OX2R 的基因表达,降低了在血清中皮质酮和神经元特异性烯醇化酶的含量,有极显著的差异($P<0.01$),对海马(HIP)中 OX1R、OX2R 的基因表达有微弱的上调作用。**结论:** 中药复方镇惊温胆汤可以调控大鼠 ORX 系统 OX1R 及 OX2R 受体和血清中皮质酮和神经元特异性烯醇化酶含量,能够改善大脑兴奋-抑制功能失衡状态,从而有效缓解 PTSD 不寐、善惊等病理状态。

关键词: 创伤后应激障碍;海马;前额叶皮质;杏仁核;食欲素;镇惊温胆汤

中图分类号: R-33; R651; R338.27 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2020)15-2808-05

Effect of Zhenjingwendan Decoction on Gene Expression of ORX Receptor in PTSD Rats*

LIU Yan[#], GAO Jun-qiao[#], LI Feng, ZHOU Qin, SONG Yue-han[△]

(Traditional Chinese Medicine College of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029, China)

ABSTRACT Objective: To study the regulation of Zhenjingwendan decoction on corticosterone and neuron-specific enolase in serum and the expression of ORX receptor orexin1 receptor (OX1R) and orexin2 receptor (OX2R) in cortical limbic system of rats with post-traumatic stress disorder. **Methods:** PTSD model rats were established by single prolonged stress. The changes of OX1R and OX2R in brain region of rats were analyzed by real time PCR technique, and the changes of corticosterone and neuron specific enolase in serum were analyzed by Elisa. **Results:** The Zhenjingwendan decoction group increased the expression of OX1R and OX2R genes in the prefrontal cortex (PFC) and amygdala (AMY), reduced the levels of corticosterone and neuron-specific enolase in the serum, with significantly difference between the two groups ($P<0.01$). At the same time, the gene expression of OX1R and OX2R in hippocampus (HIP) was increased slowly. **Conclusion:** Zhenjingwendan decoction can regulate the content of corticosterone and neuron-specific enolase in rat serum and OX1R and OX2R receptors in ORX system, improve the imbalance of brain excitation-inhibition function, and alleviate the pathological state of insomnia and susceptible to fright effectively.

Key words: PTSD; Hippocampus; Prefrontal cortex; Amygdala; Orexin; Zhenjingwendan decoction

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R651; R338.27 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)15-2808-05

前言

创伤后应激障碍(Post traumatic stress disorder, PTSD)是指个体遭遇一个或多个灾难性事件,诸如战争、死亡威胁等所致的严重应激疾病。世界卫生组织调查发现 PTSD 严重影响着各成员国,以亚太地区(包括中国)、美国、埃及等最为严重^[1]。在我国,地震、洪灾、矿难、癌症等事件均造成了 PTSD 高发,如赵高峰等报告称"5.12"汶川地震 780 名幸存者三个月后罹患

PTSD 的人约有 18.4 %^[2],史蕾等筛查珠江三角洲创伤事故后 158 例患者 PTSD 阳性率为 28.5 %^[3]。PTSD 严重影响生活质量,可显著增加抑郁、药物滥用等多种身心疾病患病风险,自杀危险性亦高于普通人群,可达 19 %^[4]。因 PTSD 一般都呈现慢性病程、症状多样和高复发率,使得其治疗具有许多困难,目前尚无药物可以彻底治愈 PTSD 病人,或全面改善其所有症状,造成诸多病人终生为 PTSD 所困。因此,很多学者开始关注应激后机体的早期表现与 PTSD 症状的预测作用,并提出开展应

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(8187150712)

[#] 并列第一作者

作者简介:刘燕(1974-),女,硕士研究生,高级实验师,主要研究方向:神经精神疾病病证结合研究,E-mail: liuy806@163.com

高俊巧(1989-),女,硕士研究生,主要研究方向:神经精神疾病病证结合研究,E-mail: 18800105199@163.com

[△] 通讯作者:宋月晗,女,博士研究生,副教授,研究方向:神经精神疾病病证结合研究,电话:13426250071,E-mail: songyuehan1981@126.com

(收稿日期:2020-02-28 接受日期:2020-03-23)

激后早期干预以预防 PTSD 的发生^[9]。然而,目前 PTSD 预防方法多为心理治疗,对于 PTSD 有明确预防效果的药物较少^[6],对干预时间更鲜有研究。未病先防是中医中药的治疗理念,且中医方药优势在于多系统、多层面、多靶点的协同作用,应激后早期运用中医药、发挥多靶点同调优势对 PTSD 的预防发挥积极作用。温胆汤来源于南北朝时期姚僧垣的《集验方》,最早记载于唐代孙思邈《千金方》,现所用温胆汤多遵循宋代陈无择《三因方》所载温胆汤,药物组成为半夏、竹茹、枳实、陈皮、茯苓、甘草、生姜、大枣,临床实践证明该方是调节情志的良方,课题前期研究表明温胆汤类方剂是治疗 PTSD 较好的选择,本研究拟将温胆汤加味桂枝、白芍、生龙骨、生牡蛎组成镇惊温胆汤以提高 PTSD 的预防效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

将成年雄性 wistar 大鼠 30 只(北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SYXK(京)2006-0012),饲养于清洁级动物房,室内相对湿度:60%—70%,温度:22.0℃—24.0℃,40 W 日光灯照射,光照节律 12 L:12 D(8:00—20:00),自由饮水。将大鼠分为正常组、模型组、镇惊温胆汤组,每组 10 只。

1.2 实验用药及制备

镇惊温胆汤的制备:药物组成为清半夏 6 g、枳实 6 g、竹茹 6 g、陈皮 9 g、茯苓 4.5 g、炙甘草 3 g、生姜 5 片 8 g、大枣一枚(3 g)、桂枝 9 g、白芍 9 g、生龙骨 6 g、生牡蛎 9 g 以上生药均经北京创立科创医药技术开发有限公司加工成浸膏,备用。

1.3 主要试剂与仪器

SV Total RNA Isolation System: Promega 公司, USA。通用型 SYBR Green Supermix, 美国。大鼠固定器:圆柱形可调节大鼠固定器。Step one PCR 仪:ABI, USA。大鼠皮质酮/肾上腺酮(CORT)酶联免疫试剂盒:武汉华美生物工程有限公司。大鼠血清神经元烯醇化酶(NSE)ELISA 试剂盒:上海西唐生物科技有限公司。

1.4 模型的复制及给药方法

采用单次延长刺激(Single-prolonged stress, SPS)方法^[7]建立 PTSD 大鼠模型,首先用束缚器将大鼠进行 2 h 的紧密束缚,随后进行 20 min 强迫游泳,休息 15 min 后乙醚麻醉至意识丧失,然后把动物放回鼠笼静养。

此后,每天按人体用药量大鼠等效剂量 2 mL 给镇惊温胆汤组灌服镇惊温胆汤,其余组为等体积的蒸馏水,容积为 1 mL/100 g,持续 1 周。

1.5 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测

麻醉大鼠,选取大鼠不同脑区,按照试剂盒步骤提取总 RNA,逆转录合成 cDNA,采用实时荧光定量 RT-PCR 法进行扩增,检测 OX1R、OX2R 的 mRNA 表达。

1.6 Elisa 检测

麻醉大鼠,腹主动脉取血,离心取血清,按照试剂盒步骤,测定各孔 OD 值(450 nm)。

1.7 数据处理

采用 "Curve Expert1.3" 专业软件绘制标准曲线,根据样品的 OD 值,由标准曲线得出相应的浓度,再乘以稀释的倍数,即

为样品的浓度。

数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计学处理。各项指标中,计量变量采用(均数±标准差)描述,正态分布的资料采用单因素方差分析,偏态分布的资料采用秩和检验进行组间比较。检验水准取 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为有显著性差异, $P<0.01$ 为有极显著性差异,都具有统计学意义。

2 结果

2.1 镇惊温胆汤对大鼠脑区 OX1R 及 OX2R 的影响"

2.1.1 镇惊温胆汤对海马中 OX1R 及 OX2R 基因的影响 由图 1 可以看出,大鼠经 SPS 造模后,食欲素(Orexin)的两个受体 OX1R 及 OX2R 基因在海马中表达明显异常。模型组大鼠在海马中的 OX1R 及 OX2R 表达有不同程度地下降,与正常组相比均有极显著差异($P<0.01$)。中药复方镇惊温胆汤组大鼠在海马中的 OX1R、OX2R 表达有微弱的上调作用,与模型组相比无显著差异。



图 1 海马脑区 OX1R、OX2R 基因表达变化

Fig. 1 Expression of OX1R and OX2R genes in hippocampal brain region

Note: *compared with the normal group $P<0.01$.

2.1.2 镇惊温胆汤对皮质中 OX1R 及 OX2R 基因的影响 由图 2 可以看出,大鼠经 SPS 造模后,食欲素(Orexin)的两个受体 OX1R 及 OX2R 基因在皮质脑区中表达明显异常。模型组大鼠在皮质中的 OX1R 及 OX2R 表达均有不同程度地下降,与正常组相比均有极显著差异($P<0.01$)。中药复方镇惊温胆汤组大鼠在皮质中 OX1R、OX2R 表达明显升高,与模型组相比有极显著差异($P<0.01$)。

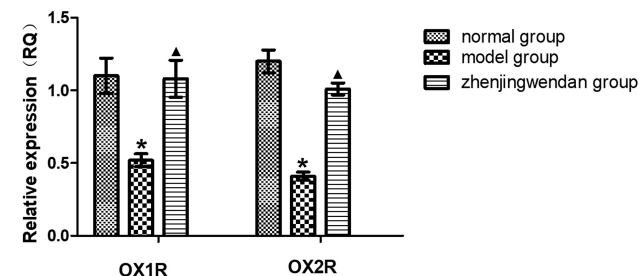


图 2 皮质脑区 OX1R、OX2R 基因表达变化

Fig. 2 Changes of OX1R and OX2R gene expression in cortical brain region

Note: *compared with the normal group $P<0.01$;

▲ compared with the model group $P<0.01$.

2.1.3 镇惊温胆汤对杏仁核中 OX1R 及 OX2R 基因的影响 由图 3 可以看出,大鼠经 SPS 造模后,食欲素(Orexin)的两个受体 OX1R 及 OX2R 基因在杏仁核中表达明显异常。模型组大

鼠在杏仁核中 OX1R 及 OX2R 表达均有不同程度地下降,与正常组相比均有极显著差异($P<0.01$)。中药复方镇惊温胆汤组在杏仁核中 OX1R、OX2R 表达明显升高,与模型组相比有极显著差异($P<0.01$)。

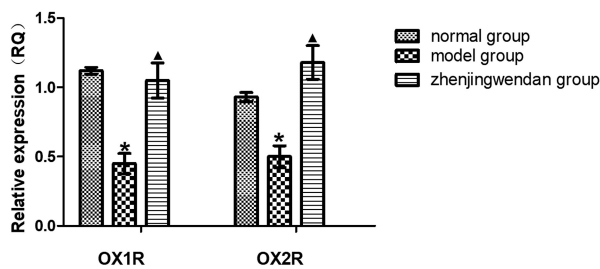


图3 杏仁核脑区 OX1R、OX2R 基因表达变化

Fig. 3 Expression of OX1R and OX2R genes in the amygdala brain region

Note: * compared with the normal group $P<0.01$;

▲ compared with the model group $P<0.01$.

2.2 镇惊温胆汤对血清中皮质酮和 NSE 的影响

2.2.1 镇惊温胆汤对血清中皮质酮的影响 由图4可知,经SPS造模7d后,模型组大鼠血清皮质酮浓度明显升高,与正常组相比有极显著差异($P<0.01$)。镇惊温胆汤与模型组相比有极显著差异($P<0.01$)。说明镇惊温胆汤可以有效地降低 PTSD 样大鼠血清皮质酮的异常升高。

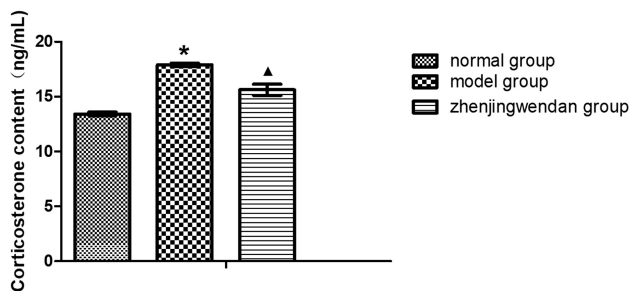


图4 血清皮质酮含量变化 (ng/mL)

Fig.4 Changes of corticosterone content in serum (ng/mL)

Note: * compared with the normal group $P<0.01$;

▲ compared with the model group $P<0.01$.

2.2.2 镇惊温胆汤对血清中 NSE 的影响 由图5可看出,经SPS造模7d后,模型组大鼠血清NSE浓度明显升高,与正常组相比有极显著差异($P<0.01$)。镇惊温胆汤与模型组相比均有极显著差异($P<0.01$)。说明镇惊温胆汤可以有效地降低 PTSD

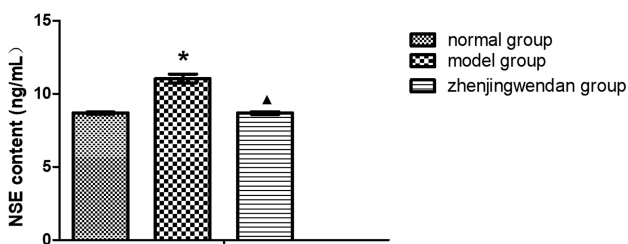


图5 血清 NSE 含量变化 (ng/mL)

Fig.5 Changes of NSE content in serum (ng/mL)

Note: * compared with the normal group $P<0.01$;

▲ compared with the model group $P<0.01$.

所致的 NSE 损伤。

3 讨论

温胆汤方中半夏降逆和胃,燥湿化痰为君;竹茹清热化痰,止呕除烦,枳实行气消痰,使痰随气下为臣;陈皮理气燥湿,茯苓健脾渗湿为佐;姜、枣、甘草益脾和胃,协调诸药为使,诸药合用,共奏理气化痰,清胆和胃之效,用于"心胆虚怯,触事易惊,梦寐不祥,或异象惑惑,遂致心惊胆摄,气郁生涎,涎与气转,变生诸证。或短气悸乏,或复自汗,四肢浮肿,饮食无味,心虚烦闷,坐卧不安。"自古以来多有医家采用温胆汤加减治疗多异梦,忽惊觉多魔类症状。古今研究表明温胆汤理气化痰、利胆和胃,是防治 PTSD 的优选方剂,然对"惊则神出于舍","神发于心而交于肾,则神清而不摇。神不交精,是生惊悸"的心肾不交、神气浮越的情况则力量较弱,因此本研究加桂枝、白芍合用以补虚和阴阳,加龙骨、牡蛎重镇固涩,潜阳入阴,使阴阳相济,心肾交通,组成镇惊温胆汤。

战争、暴力、车祸等严重创伤性应激事件是 PTSD 发生的重要因素之一^[8,9]。应激可导致下丘脑-垂体-肾上腺轴(Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)兴奋性提高,导致机体皮质类固醇激素明显升高,并通过糖皮质激素受体(GR)和盐皮质激素受体(MR)负反馈调节,从而使机体皮质类固醇激素恢复到正常水平途径发挥正常的调控作用。PTSD 的焦虑、恐惧等症状与 HPA 轴的负反馈调节功能与有密切关系^[10,11]。HPA 轴主要调节机体对外界应激的反应,组成神经内分泌系统,而糖皮质激素是神经内分泌的最终产物^[12]。研究表明,PTSD 会使大鼠的生理状态发生改变,造成神经内分泌的损伤,会导致大鼠的血清皮质酮升高^[13]。另有研究表明 GR 可能是 PTSD 重要的治疗靶点^[14]。海马作为机体应激反应的整合部位,海马 GR/MR 通过影响皮质酮的水平,参与 HPA 的负反馈调节。机体在正常情况下,MR 和 GC 结合,对 HPA 轴起抑制作用;当机体处于应激状态下,会促使 GC 大量增加,和 GR 结合,引起 HPA 轴功能亢进,进而释放大量的糖皮质激素(GC);高浓度的 GC 最终导致海马神经元功能和形态结构受损^[15]。有在应激状态下,HPA 轴被激活,可导致皮质酮等糖皮质激素的增多^[16],血清中的皮质酮(CORT)为主的糖皮质激素经血脑屏障进入大脑,进而影响人类和动物的行为^[17]。因此,检测 SPS 方法是否成功复制 PTSD 的标准为大鼠经 SPS 应激后血清皮质酮水平的升高,同时,也是检测药物疗效的重要参考标准。本次研究中,经 SPS 造模 7 天后,模型组大鼠的血清皮质酮水平与正常组相比明显升高,有极显著差异($P<0.01$)。说明 SPS 造模会使大鼠的血清皮质酮水平升高,较好地复制了 PTSD 的"应激激素"升高这一生理状态。说明此次造模成功地复制了 PTSD 样大鼠模型。镇惊温胆汤组与模型组相比有极显著差异($P<0.01$)。说明镇惊温胆汤可以有效地降低 PTSD 样大鼠血清皮质酮的异常升高,抑制 HPA 的负反馈调节,进而改善 PTSD 模型所致的生理状态的改变。

神经元特异性烯醇化酶 (Neuron-specific enolase, NSE) 为糖酵解途径中的一种关键酶,主要存在神经元和神经内分泌细胞中^[18]。在神经系统损伤,缺血缺氧性脑病、中毒性损伤时,血脑屏障通透性增强,此时 NSE 便可通过血脑屏障,进入血液循

环中。有研究表明在新生儿猝死后脑损伤中NSE会明显升高,可用于识别新生儿严重脑损伤和预测预后^[19]。所以,血液中的NSE含量越高就说明脑组织的损伤越重,特别是神经元细胞的损伤越多^[20,21]。有研究发现抑郁大鼠模型的海马及额叶的NSE的表达明显减少^[22]。癫痫患儿血清神经原特异性烯醇化酶(NSE)明显高于正常组的儿童^[23]。另有研究表明血清NSE可作为急性一氧化碳中毒患者迟发性神经精神后遗症的早期预测因子^[24]。血神经元特异性烯醇化酶被用来检测应激时大脑神经元损伤的敏感指标,现在国内外着重研究NSE和中枢神经系统之间的关系,并且逐渐地用于应激时损伤的评价,可作为检测应激损伤程度的评价指标^[25]。同时,也是检测药物疗效的重要参考标准。本次实验中,经SPS造模后,模型组与正常组大鼠相比,血清中NSE的含量明显升高,有极显著差异($P<0.01$)。这与大鼠恐惧应激实验模拟PTSD的试验中,PTSD大鼠的血清中NSE的浓度明显升高这一实验结果相一致^[26]。说明SPS造模后会使得大鼠的血清NSE水平升高,较好地复制了PTSD应激所致的大脑组织的损伤,特别是神经元细胞的损伤这一生理状态改变。说明此次SPS造模,成功地复制了PTSD样大鼠模型。镇惊温胆汤与模型组相比均有极显著差异($P<0.01$)。说明镇惊温胆汤可有效地降低PTSD样大鼠血清NSE的异常升高,有效地改善PTSD大鼠脑损伤这一生理状态的改变,具有神经保护作用。也可以认为PTSD符合中医“气机失调,积痰内郁”的病机特点,治疗时从痰、气机入手不失为一种良策。

食欲素(Orexin),也被称为下丘脑泌素^[27],可分泌OrexinA和OrexinB这两种神经肽,并且通过OX1R及OX2R这两种受体相互调节,发挥作用。主要是位于下丘脑外侧区神经元分泌,前额叶皮层、海马、丘脑和下丘脑也可分泌^[28]。Orexin神经末梢广泛地分布在大脑皮层、边缘系统(主要包括海马和杏仁核)等区域^[29]。OX1R和/或OX2R与Orexin纤维末梢的分布相一致^[30]。Orexin在调节应激反应方面的研究越来越多,该系统与PTSD的关系逐渐得到关注。有研究表明杏仁核为创伤后应激障碍的恐惧记忆形成的关键脑区^[31]。Arendt DH等人^[32]采用社会打击模型,在旷场实验中发现大鼠杏仁核区敲除OX2R基因受体的大鼠会增加大鼠的焦虑样行为。大量研究表明,海马、杏仁核区OX1R及OX2R受体的变化可产生PTSD样的焦虑及恐惧行为^[33]。前额叶是大脑的司令部,抑制不恰当情绪反应或散乱刺激,有证据表明前额叶中央部通过抑制杏仁核的活性,可能调节与特殊记忆有关的情绪反应^[34,35]。本次研究检测大鼠中ORX系统两个G蛋白受体OX1R及OX2R在HIP、PFC及AMY中的基因表达,经SPS造模7d后,模型组大鼠OX1R及OX2R基因表达在HIP、PFC及AMY中均显著性下降,与正常组相比均有极显著差异($P<0.01$)。这与PTSD中ORX系统OX1R及OX2R受体减少的研究结果较为一致^[36]。从用药组结果来看,中药复方镇惊温胆汤组在PFC及AMY中对OX1R、OX2R的基因表达起了明显的调控作用,与模型组相比有极显著差异($P<0.01$),可推断镇惊温胆汤对PTSD的调节与ORX系统OX1R、OX2R基因表达存在一定的关系,但在HIP中,未表现出对OX1R、OX2R的基因表达了明显的调控作用。因此,本研究提示了前额叶皮质、杏仁核中的OX1R、OX2R相关的

分子机制是进一步挖掘镇惊温胆汤作用靶点的可行思路。

SPS对模型大鼠ORX系统的稳态起到了一定的影响,打破了大脑兴奋-抑制功能平衡状态,使模型动物出现了易惊扰、探究能力下降等行为学改变。中药复方镇惊温胆汤可以影响ORX的代谢途径,这种作用的发挥可能与调控ORX系统OX1R、OX2R受体相关,能够改善大脑兴奋-抑制功能失衡状态,从而有效缓解PTSD不寐、善惊等病理状态,中药复方镇惊温胆汤在AMY中对OX1R、OX2R的基因表达起了明显的调控作用。

参考文献(References)

- [1] American Psychiatric Association Diagnostic and statistical manual of mental disorders [M]. Fourth Edition (DSM-IV), Washington, DC, 1994
- [2] 赵高峰,杨彦春,张树森,等.汶川地震极重灾区780名受灾群众心理状况调查[J].中国循证医学杂志,2008,8(10):815-819
- [3] 史蕾,杨芳梅,张细顺,等.珠江三角洲创伤事故后应激障碍的发生及影响因素分析[J].中国健康心理学杂志,2012,20(11):1649-1651
- [4] Davidson J Stein D, Shalev A, et al. Posttraumatic stress disorder: acquisition, recognition, course, and treatment [J]. J Neuropsych Clin N, 2004, 16(2): 135-147
- [5] Van M, Gigengack M, Verlinden E, et al. Predicting posttraumatic stress disorder in children and parents following accidental child injury: evaluation of the Screening Tool for Early Predictors of Posttraumatic Stress Disorder (STEPP)[J]. BMC Psychiatry, 2015, 15(1): 113
- [6] Sijbrandij M, Kleiboer A, Bisson J, et al. Pharmacological prevention of post-traumatic stress disorder and acute stress disorder: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet Psychiatry, 2015, 2(5): 413-421
- [7] Yamamoto S, Morinobu S, Takei S, et al. Single prolonged stress: toward an animal model of posttraumatic stress disorder [J]. Depress Anxiety, 2009, 26(12): 1110-1117
- [8] Drozdek B, Rodenburg J, Moyene A. "Hidden" and Diverse Long-Term Impacts of Exposure to War and Violence [J]. Front Psychiatry, 2019, 10(1): 975
- [9] Fekadu W, Mekonen T, Belete H, et al. Incidence of Post-Traumatic Stress Disorder After Road Traffic Accident [J]. Front Psychiatry, 2019, 10(1): 519
- [10] 位景香,王永堂,鲁秀敏.创伤后应激障碍的中医疗法及其机制研究进展[J].中国康复理论与实践,2017,23(1):54-58
- [11] 刘雁峰,王天芳.复合应激因素致大鼠促肾上腺皮质激素和皮质酮含量变化的研究[J].中国医药学报,2000,15(1):72-74
- [12] Dieleman G, Huizink A, Tulen J, et al. Alterations in HPA-axis and autonomic nervous system functioning in childhood anxiety disorders point to a chronic stress hypothesis [J]. Psychoneuroendocrino, 2015, 51(2): 135-150
- [13] 刘祥敏,张先庚,王红艳,等.补肾中药对PTSD孕鼠子代行为遗传及血清皮质酮的干预研究 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(11): 2643-2645
- [14] Szeszko P, Lehrner A, Yehuda R. Glucocorticoids and Hippocampal Structure and Function in PTSD[J]. Harv Rev Psychiatry, 2018, 26(3): 142-157

- [15] 陈淑媛,贺薇,石玉秀. 海马-HPA轴-PTSD的相关性[J]. 中外医疗, 2010, 29(25): 187-189
- [16] Bomyea J, Risbrough V, Lang A. A consideration of select pretrauma factors as key vulnerabilities in PTSD[J]. Clin Psychol Rev, 2012, 32(7): 630-641
- [17] Quervain D, Aerni A, Schelling G, et al. Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease [J]. Front Neuroendocrinol, 2009, 30(3): 358-370
- [18] Diaz A, Roig B, Garcia M, et al. alpha-Enolase, a multifunctional protein: its role on pathophysiological situations [J]. J Biomed Biotechnol, 2012, 2012(01): 1-12
- [19] Echeverria C, Agut T, Arnaez J, et al. Neuron-Specific Enolase in Cerebrospinal Fluid Predicts Brain Injury After Sudden Unexpected Postnatal Collapse[J]. Pediatr Neurol, 2019, 101(2): 71-77
- [20] Wundic M, Ebem A, Ktatz T, et al. Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiomarkers of brain damage[J]. Stroke, 1999, 30(6): 1190-1195
- [21] Polcyn R, Capone M, Hossain A, et al. Neuron specific enolase is a potential target for regulating neuronal cell survival and death: Implications in neurodegeneration and regeneration [J]. Neuroimmunol Neuroinflamm, 2017, 4(3): 254-257
- [22] 夏军,雷益,周义成. 慢性应激大鼠抑郁症模型的免疫组织化学和MRI研究[J]. 武汉大学学报(医学版), 2006, 27(1): 83-86
- [23] 赵日东,宋广叶. 癫痫患儿血清NSE和IL-6水平改变及临床意义[J]. 基层医学论坛, 2016, 20(6): 780-782
- [24] Cha Y, Kim H, Do H, et al. Serum neuron-specific enolase as an early predictor of delayed neuropsychiatric sequelae in patients with acute carbon monoxide poisoning[J]. Hum Exp Toxicol, 2018, 37(3): 240-246
- [25] Missler U, Wiesmann M, Friedrich C, et al. S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke [J]. Stroke, 1997, 28(10): 1956-1960
- [26] 潘霄. 大鼠恐惧应激模型的建立与评价指标筛选[D]. 第二军医大学, 2011
- [27] De L, Kilduff T, Peyron C, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(1): 322-327
- [28] Saper C, Akil H, Watson S. Lateral hypothalamic innervation of the cerebral cortex: immunoreactive staining for a peptide resembling but immunochemically distinct from pituitary/arcuate alpha-melanocyte stimulating hormone[J]. Brain Res Bull, 1986, 16(1): 107-120
- [29] Cutler D, Morris R, Sheridhar V, et al. Differential distribution of orexin-A and orexin-B immunoreactivity in the rat brain and spinal cord[J]. Peptides, 1999, 20(12): 1455-1470
- [30] Prashant T, Hong Y, Douglas J, et al. Erratum to: Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain (FEBS 21024)[J]. FEBS Lett, 1999, 442(1): 122-122
- [31] Mahan A, Ressler K. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder [J]. Trends Neurosci, 2012, 35(1): 24-35
- [32] Arendt D, Hassell J, Li H, et al. Anxiolytic function of the orexin2/hypocretinA receptor in the basolateral amygdala [J]. Psychoneuroendocrinol, 2014, 40(2): 17-26
- [33] Philip L, Andrei M, Stephanie D, et al. Truitt, Anantha Shekhar. Orexin, stress, and anxiety/panic states [J]. Prog Brain Res, 2012, 198(4): 133-161
- [34] Schulz B, Lessmann V, Endres T. BDNF-dependent consolidation of fear memories in the perirhinal cortex[J]. Front Behav Neurosci, 2013, 7(17): 205
- [35] Penzo M, Robert V, Li B. Fear conditioning potentiates synaptic transmission onto long-range projection neurons in the lateral subdivision of central amygdala [J]. J Neurosci: Off J Soc Neurosci, 2014, 34(7): 2432-2437
- [36] 池恒,黄伟伟,唐吉友. Orexin系统与学习记忆[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2016, 43(1): 69-72