

侧脑室注射 CRH 对急性冷暴露长爪沙鼠 BAT 产热的影响及产热调节机理

杨 明 李庆芬* 黄晨西

(北京师范大学生命科学学院, 生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 北京, 100875)

摘要: 长爪沙鼠侧脑室注射促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 8 μg 或 CRH 受体阻断剂 2.5 μg 后, 4 \pm 1 暴露 3 h, 对照组注射等体积生理盐水并置于 24 \pm 2 或 4 \pm 1 下。与常温对照组相比, 低温对照组褐色脂肪组织 (BAT) 重量下降, BAT 中解偶联蛋白 (UCPI) mRNA 上调; 下丘脑促甲状腺激素释放激素 (TRH) 含量降低, 血清 T_3 、 T_4 、 T_3/T_4 水平及 BAT 中 T_4 脱碘酶活性均增加, 血清去甲肾上腺素 (NE) 含量上升。与低温对照组相比, 侧脑室注射 CRH 后再冷暴露, BAT 重量、蛋白总含量和 UCPI mRNA 含量趋于减少; 血清 NE 含量上升, BAT 中 T_4 脱碘酶活性增加, 但下丘脑 TRH 含量、血清 T_3 、 T_4 及 T_3/T_4 水平均降低。侧脑室注射 2.5 μg 的 CRH 受体阻断剂 - helical CRH 9 - 41, 对冷暴露长爪沙鼠甲状腺轴的分泌、BAT 重量、血清中 NE 水平及 UCPI mRNA 含量没有明显影响。结果表明, 急性冷暴露激活了长爪沙鼠下丘脑 - 垂体 - 甲状腺 (HPT) 轴和交感神经系统, 刺激 BAT 产热和 UCPI 合成; 而 CRH 作用于中枢, 可能一方面抑制 HPT 轴的分泌, 进而抑制 UCPI 的基因表达, 另一方面又刺激交感神经, 增加产热。

关键词: 急性冷暴露; 褐色脂肪组织; 下丘脑 - 垂体 - 甲状腺轴; UCPI mRNA; 长爪沙鼠

中图分类号: Q955

文献标识码: A

文章编号: 1000 - 1050 (2003) 01 - 0045 - 07

Effects of Introventricular Injection of CRH on Thermogenesis and Regulation of BAT in *Meriones unguiculatus* in Acute Cold Exposure

YANG Ming LI Qinfen HUANG Chenxi

(Ministry of Education, Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing, 100875)

Abstract: This study investigated effects of corticotropin-releasing hormone (CRH) on thermogenesis of brown adipose tissue (BAT) and its regulatory mechanism in groups of male Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). Gerbils were introventricularly injected with 8 μg of CRH or 2.5 μg of CRH receptor blocker -helical CRH 9 - 41 and then exposed to 4 \pm 1 for 3 hours. Two other groups of gerbils were injected with the same volume of physiological saline as the former groups and kept in regular temperature (RT, 24 \pm 2) or exposed to 4 \pm 1 as controls. Weight, protein content and T_4 - D activity of BAT, uncoupling protein 1 (UCPI) mRNA content in BAT, thyrotropin-releasing hormone (TRH) content in hypothalamus, levels of T_3 , T_4 , norepinephrine (NE) and corticosterone content in serum were measured. As compared with RT - control, the weight of BAT decreased and UCPI mRNA content was promoted in cold control group. TRH content in hypothalamus was decreased while levels of T_3 , T_4 and NE in serum, and T_4 - D of BAT were increased in cold group. It was suggested that cold exposure activated hypothalamus - pituitary-thyroid (HPT) axis and sympathetic nervous system, and increased thermogenesis of BAT in Mongolian gerbils. In the CRH injected animals, weight and protein content of BAT and UCPI mRNA content in BAT were decreased while content of TRH in hypothalamus, and T_3 , T_4 and T_3/T_4 in serum were decreased, however, NE in serum and T_4 - D activity of BAT were in -

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39970124)

作者简介: 杨明 (1966 -), 女, 博士生, 副教授, 主要从事动物生理生态学研究。

收稿日期: 2001 - 10 - 31; 修回日期: 2002 - 03 - 21

*通讯作者: Email: lidu@bnu.edu.cn

creased markedly as compared with gerbils with cold control. It was speculated that CRH may restrain HPT axis and therefore, suppress the gene expression of UCP1 by decreasing content of UCP1 mRNA. CRH may also activate central sympathetic nervous system resulting in higher level of serum NE and then increase activity of $T_5 - D$ of BAT in CRH injected group than that in cold control group. The activated sympathetic nervous system may increase thermogenesis of BAT which consume fat as source of energy. The 2.5 μg of CRH receptor blocker α -helical CRH 9 - 41 injected introventricularly did not cause marked change in the parameters measured. This may be due to the insufficient dosage used in the experiment.

Key words: Cold exposure; Brown adipose tissue (BAT); Hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT); UCP1 mRNA; Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*)

褐色脂肪组织 (Brown adipose tissue, BAT) 是小哺乳动物适应性产热的主要部位, BAT 产热受光照、温度、食物等多种生态因子的影响, 如低温刺激使 BAT 增长、BAT 线粒体内膜的解偶联蛋白 (Uncoupling protein, UCP1) 基因表达增加, UCP1 含量增加等^[1,2]。有关 BAT 产热的调节机理有一些报道, 交感神经直接控制 BAT 产热^[3], 冷暴露下, 支配 BAT 的交感神经活性增强, 末梢释放大量的去甲肾上腺素 (Norepinephrine, NE)。冷暴露激活下丘脑 - 垂体 - 甲状腺 (HPT) 轴, 下丘脑多个核团 (室旁核、背运动核、尾缝核) 促甲状腺激素释放激素 (TRH) 合成增加^[4,5], 动物血清中 TRH 和促甲状腺激素 (TSH) 水平升高^[6,7], 外周组织中甲状腺激素代谢加快, 血清 T_3 含量及 T_3/T_4 增加^[8]。 T_3 协同 NE 作用, 增加 BAT 产热。

急性冷暴露对动物也是一种冷应激刺激, 应激激活下丘脑 - 垂体 - 肾上腺 (HPA) 轴。已有研究表明, 促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 参与 BAT 产热调节, 但不同研究者对动物的处理方式不同, CRH 及 HPA 轴对产热作用的结果不尽一致^[9~11]。本文通过对长爪沙鼠侧脑室注射外源 CRH 或 CRH 受体阻断剂 α -helical CRH 9 - 41, 研究动物在急性冷暴露下 BAT 产热及甲状腺激素的变化, 进而探讨 CRH 对冷应激动物 BAT 产热的作用及 BAT 产热的调节机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*) 购于北京医科大学实验动物部, 在我们实验室饲养繁殖, 人工控温 24 ± 2 、控光 12L 12D。用于实验的动物为雄性成体, 体重 $57.7 \sim 79.8$ g, 随机分为 4 组: 常温对照组 (RT control), 低温对照组 (Cold control),

CRH 注射组 (CRH injection) 及 CRH 阻断组 (CRH block)。

1.2 侧脑室注射与冷应激

腹腔注射戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 麻醉动物, 剪开颅顶皮肤, 头部固定于脑立体定位仪上, 侧脑室注射坐标为: 前囟后 1 mm, 矢状线侧 1.4 mm。颅骨打孔后, 微量进样器进针深度 3.5 mm。注射剂量为: 生理盐水 4 μl (对照组), CRH 8 $\mu\text{g}/4 \mu\text{l}$ (CRH 注射组), CRH 阻断剂 α -helical CRH 9 - 41 2.5 $\mu\text{g}/4 \mu\text{l}$ (CRH 阻断组)^[12]。CRH 和 α -helical CRH 9 - 41 均为 Sigma 产品。注射后 1 h, 常温对照组仍置于室温 24 ± 2 下, 其余各组动物放入 4 ± 1 低温房。冷暴露 3 h 后, 断颈处死动物, 取血, 并于冰上取肾上腺、BAT、下丘脑。除测定 T_4 脱碘酶的 BAT 外, 各组织均直接放于液氮中, 然后转入 -75 冻存。

1.3 BAT 中 UCP1 mRNA 含量的测定

BAT 中 UCP1 mRNA 含量的测定采用反转录扩增 (Reverse-transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 方法。从 0.1 g BAT 组织中提取总 RNA, 取 1 μg 总 RNA, 进行反转录 (42 $^{\circ}\text{C}$, 1 h) 获得 cDNA, 再加入 UCP 及 β -actin 引物^[13]和各 PCR 组分, 扩增 30 个循环。取部分 PCR 产物, 进行琼脂糖凝胶电泳, 用美国 UVP 公司生产的 GPS PC - 800 凝胶成像分析系统观察、拍照、扫描分析, UCP1 mRNA 的相对含量以 UCP1 mRNA 与 β -actin 的比率表示。

1.4 下丘脑 TRH 含量测定

按照 Glowinski 等^[14]方法 (1966) 取下丘脑组织块, 用 0.1N HCl 超声破碎, 离心, 上清冷冻干燥 (并取少量上清, 按 Folin - phenol 方法以牛血清蛋白为标准, 测定蛋白含量)。冻干样品用 PBS 缓冲液充分溶解, 然后用中国北方生物技术公司生产

的 TRH 放射免疫药盒测定。

1.5 血清三碘甲腺原氨酸 (T_3) 和甲状腺素 (T_4) 含量测定

用中国原子能研究院生产的 T_3 和 T_4 放射免疫药盒测定。

1.6 BAT 中 T_4 5 脱碘酶 (T_4 5 - D) 活性测定

取新鲜 BAT 称重, 用 10 倍体积缓冲液 (0.32 M Sucrose, 10 mM HEPES, 20 mM DTT, 1 mM EDTA, pH 7.0) 匀浆, 离心 ($4 \times 10^5 \times g$, 15 min), 上清即为制备的粗酶液。以 T_4 为底物, 37 °C 反应 1 h, 用 2 倍体积的冰无水乙醇终止反应, 空白对照先用 2 倍体积的冰无水乙醇使酶变性后再加 T_4 进行反应。产物 T_3 用中国原子能研究院生产的 T_3 放射免疫药盒测定。

1.7 血清去甲肾上腺素 (NE) 含量测定

用 2 mol/L 高氯酸抽提血清中 NE, 经中性 Al_2O_3 吸附, 0.3 mol/L 醋酸浸泡提取, 中性条件下 $K_3Fe(CN)_6$ 氧化, 产物在碱性溶液中生成三羟基吲哚类的荧光化合物^[15], 荧光光谱仪检测, 激发光波长 410 nm, 发射光波长 524 nm。

1.8 血清皮质酮含量测定

皮质酮含量用荧光法测定。血清先用水稀释 10 倍, 加入 5 倍体积的二氯甲烷抽提其中皮质酮, 再用硫酸 - 乙醇反抽提, Fluormax - 2 型荧光光谱仪检测。激发光波长 470 nm, 发射光波长 560 nm。

1.9 统计学分析

使用 SPSS 统计软件包, 考察数据, 去除极值后, 用非参数检验 (nonparametric tests) 分析样本的组间差异, 差异显著程度以 0.05 为标准。数据

用平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE) 表示。

2 结果

2.1 BAT 重量和蛋白含量的变化

冷暴露 3 h 长爪沙鼠 BAT 绝对重量和相对重量分别降为常温对照组的 86.4 % 和 81.8 %, 但 BAT 蛋白的总体含量没有改变。侧脑室注射 CRH 并冷暴露 3 h 组, BAT 绝对重量和相对重量均明显下降, 分别为低温对照组的 78.9 % 和 81.5 %, BAT 蛋白总体含量降为对照组的 80.5 %。侧脑室注射 -helical CRH 9 - 41 后冷暴露 3 h, BAT 重量和蛋白含量与低温对照组无明显差异 (表 1)。

2.2 BAT 中 UCPI mRNA 水平的变化

冷暴露 3 h, 长爪沙鼠 BAT 线粒体 UCPI mRNA 含量比常温对照增加 44.9 %。侧脑室注射 CRH 后再冷暴露, UCPI mRNA 水平降为低温对照的 68.4 %, 而注射 -helical CRH 9 - 41 后 UCPI 的基因表达为常温对照的 112.7 %, 为低温对照组的 77.8 % (图 1)。

2.3 下丘脑 TRH 及血清 T_3 和 T_4 含量

冷暴露 3 h, 长爪沙鼠下丘脑 TRH 含量降为常温对照的 73.7 %, 而血清 T_3 、 T_4 含量及 T_3/T_4 值分别比对照增加 38.2 %、13.8 % 和 21.9 %。CRH 注射组, 下丘脑 TRH 含量降为低温对照组的 79.3 %, 血清中 T_3 、 T_4 含量及 T_3/T_4 值分别降为低温对照的 61.8 %、67.8 % 和 90.6 %。而注射 -helical CRH 9 - 41, 下丘脑 TRH 含量略高于对照, 血清 T_3 和 T_4 的量略低于对照, T_3/T_4 稍高于对照, 均未达到差

表 1 CRH 及其阻断剂对冷暴露长爪沙鼠 BAT 重量和蛋白含量的影响

Table 1 Effects of CRH and -helical CRH 9 - 41 on the weight and protein content of BAT in Mongolian gerbils in acute cold exposure

组别 Groups	体重 Body weight g	BAT 重量 Weight of BAT		蛋白含量 Protein in BAT	
		g	g/100 g Wb	mg/g BAT	mg/total BAT
常温对照 (RT- control)	68.8 \pm 2.91 (6)	0.22 \pm 0.023 (6)	0.33 \pm 0.037 (6)	160 \pm 3.3 (6)	35.8 \pm 3.72 (6)
低温对照 (Cold control)	70.1 \pm 5.27 (6)	0.19 \pm 0.011 (6)	0.27 \pm 0.020 (6)	184 \pm 18.2 * (6)	34.8 \pm 3.03 (6)
CRH 注射 (CRH injection)	69.7 \pm 2.90 (6)	0.15 \pm 0.013 (6) *	0.22 \pm 0.018 * (6)	182 \pm 10.5 (5)	28.0 \pm 1.90 (5)
CRH 阻断 (CRH block)	68.8 \pm 3.14 (6)	0.21 \pm 0.035 (6)	0.29 \pm 0.041 (6)	170 \pm 12.8 (5)	34.7 \pm 4.69 (5)

* 与常温对照组比较 Compare with RT- control; 与低温对照组比较 Compare with cold control; 括号内数字为样本量 The sample size is shown in parentheses; 体重 Body weight

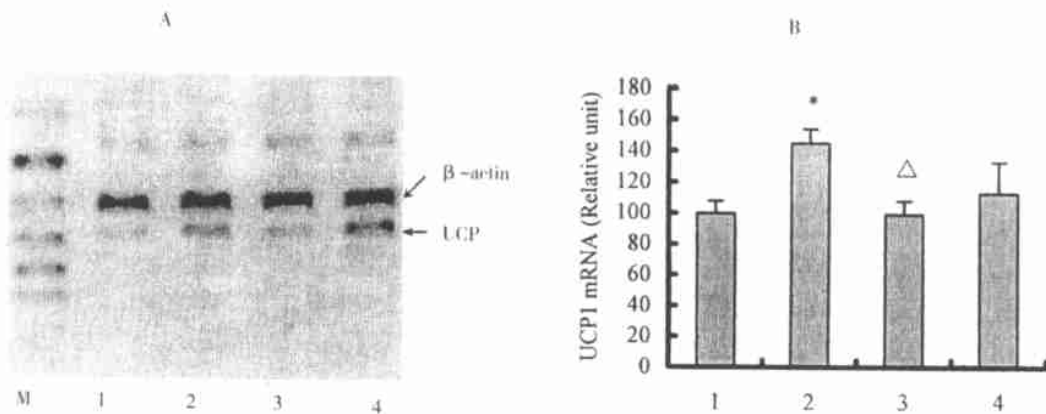


图1 CRH及其阻断剂对冷暴露长爪沙鼠BAT中UCP1 mRNA含量的影响

Fig. 1 Effects of CRH and -helical CRH 9-41 on UCP1 mRNA in BAT of Mongolian gerbils in cold exposure

A: UCP1 mRNA 的电泳图 Electrophoretogram of UCP1 mRNA, M: 分子量标准 Marker;

B: UCP1 mRNA 的扫描定量 Quantification of UCP1 mRNA by scanning densitometry; 1: 常温对照组 RT-control; 2: 低温对照组 Cold control; 3: CRH 注射组 CRH injection; 4: CRH 阻断组 CRH block; *与常温对照组比较 Compare with RT-control; Δ与低温对照组比较 Compare with cold control

异显著水平 (表2)。

2.4 BAT中T₄5脱碘酶(T₄5-D)活性

冷暴露3 h, 长爪沙鼠BAT中T₄5-D活性比对照增加, 单位质量BAT的酶活性比常温对照增加28.4%, 差异显著。侧脑室注射CRH使BAT中T₄5-D活性大大提高, 而侧脑室注射2.5 μg的-helical CRH 9-41对该酶活性没有明显影响。

2.5 血清去甲肾上腺素含量

冷暴露3 h, 长爪沙鼠血清NE水平为常温对照的2.85倍。侧脑室注射CRH使冷暴露长爪沙鼠血清NE水平进一步增高, 为常温对照的5.09倍,

为低温对照的1.79倍。侧脑室注射-helical CRH 9-41, 对冷暴露长爪沙鼠血清NE无明显影响 (图2A)。

2.6 血清皮质酮含量比较

冷暴露3 h长爪沙鼠血清皮质酮含量与常温对照组动物无差异。中枢注射CRH后, 动物在冷暴露条件下血清皮质酮含量有升高的趋势, 为低温对照组的109.1%。侧脑室注射-helical CRH 9-41后, 动物在冷暴露条件下血清中皮质酮稍高于其它各组 ($P=0.057$), 为常温对照组的125.1%, 为低温对照的125.8% (图2B)。

表2 CRH及其阻断剂对冷暴露长爪沙鼠下丘脑TRH含量及血清T₃和T₄含量的影响

Table 2 Effects of CRH and -helical CRH 9-41 to TRH in hypothalamus and T₃, T₄ in serum of Mongolian gerbils in cold exposure

组别 Groups	下丘脑 TRH 含量 TRH in hypothalamus (pg/mg protein)	血清 T ₃ 含量 T ₃ in serum (ng/ml)	血清 T ₄ 含量 T ₄ in serum (ng/ml)	T ₃ /T ₄ ×100 (%)
常温对照 (RT-control) (4)	86.73 ±5.82	0.55 ±0.03	57.4 ±4.09	0.96 ±0.07
低温对照 (Cold control) (4)	63.94 ±8.99	0.76 ±0.03 *	65.3 ±4.29	1.17 ±0.07
CRH 注射 (CRH injection) (5)	50.73 ±4.12 *	0.47 ±0.06	44.3 ±2.11	1.06 ±0.13
CRH 阻断 (CRH block) (4)	71.42 ±4.22	0.66 ±0.02	48.4 ±7.41	1.45 ±0.18 *

* 与常温对照组比较 Compare with RT-control; 与低温对照组比较 Compare with cold control; 括号内数字为样本量 The sample size is shown in parentheses

表 3 CRH 及其阻断剂对冷暴露长爪沙鼠 BAT T₄5 脱碘酶活性的影响Table 3 Effects of CRH and α -helical CRH 9-41 on the activity of BAT T₄5 deiodinase of Mongolian gerbils in cold exposure

组别 Groups	特殊活力 Specific activity		整体活力 Total activity pmol T ₃ /organ /h
	pmol T ₃ /h/mg protein	pmol T ₃ /g tissue/h	
常温对照 RT- control	1.37 \pm 0.10 (4)	218 \pm 17.5 (4)	47.5 \pm 4.5 (4)
低温对照 Cold control	1.55 \pm 0.11 (4)	280 \pm 9.5 (4) *	54.3 \pm 1.8 (4)
CRH 注射 CRH injection	3.70 \pm 0.36 (4) *	689 \pm 95.4 (4) *	100.3 \pm 11.4 (4) *
CRH 阻断 CRH block	1.37 \pm 0.16 (4)	223 \pm 42.6 (4)	51.9 \pm 7.8 (4)

* 与常温对照组比较 Compare with RT- control; 与低温对照组比较 Compare with cold control; 括号内数字为样本量 The sample size is shown in parentheses

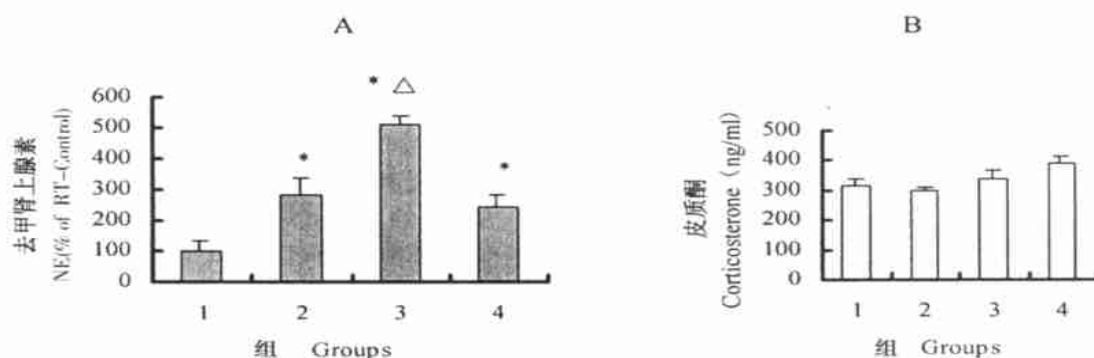


图 2 CRH 及其阻断剂对冷暴露长爪沙鼠血清中 NE 和皮质酮含量的影响

Fig. 2 Effects of CRH and α -helical CRH 9-41 on NE and corticosterone in serum of Mongolian gerbils in cold exposure

A: 血清中去甲肾上腺素含量 Content of NE in serum; B: 血清中皮质酮含量 Content of corticosterone in serum;

1: 常温对照组 RT- control; 2: 低温对照组 Cold control; 3: CRH 注射组 CRH injection; 4: CRH 阻断组 CRH block

* 与常温对照组比较 Compare with RT- control; 与低温对照组比较 Compare with cold control

3 讨论

长爪沙鼠是分布于蒙古和我国北部荒漠和半干旱地区的优势鼠种，也是我国北方农牧交错区的重要害鼠，有很宽的温度耐受范围和良好的体温调节能力，环境温度变化是诱导长爪沙鼠产热变化的主要原因之一。本实验中，低温对照组 BAT 重量比常温对照组减少，但 BAT 总蛋白含量没有减少，表明急性冷暴露下，长爪沙鼠为维持恒定体温，消耗了贮存于体内（包括 BAT 中）的脂肪作为产热的能源物质。急性冷暴露使长爪沙鼠血清 NE 水平急剧上升，表明冷暴露激活了外周交感神经系统，这与实验大鼠的研究结果相似^[16]。同时测得下丘脑 TRH 含量下降，血清 T₃、T₄ 含量上升，这可能是下丘脑 TRH 释放增加，激活垂体 - 甲状腺，促进甲状腺激素分泌的结果。冷暴露也激活了长爪沙鼠 BAT 中 T₄5 - D，使 T₄5 位脱碘转化为活性更强的 T₃。高浓度的 T₃ 作用于核受体，促进 UCP1 基

因的表达^[17]，因此本实验中，低温对照组长爪沙鼠 UCP1 mRNA 含量比常温对照增加了 44.9 %。可见，急性冷暴露激活了长爪沙鼠下丘脑 - 垂体 - 甲状腺（HPT）轴和交感神经系统，刺激 BAT 产热和 UCP1 合成。

急性冷暴露对动物也是一种应激刺激，应激激活 HPA 轴^[4]，使外周循环中糖皮质激素水平上升。但本实验中测定的血清皮质酮水平与常温对照组没有差异，可能是手术创伤和脑室注射已经使下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴分泌增加，相继的低温暴露没有引起血清皮质酮的进一步上升。

侧脑室注射外源 CRH 再冷暴露 3 h 后的长爪沙鼠 BAT 重量、BAT 整体蛋白含量和 UCP1 mRNA 含量均下降。UCP1 mRNA 含量减少可能主要是通过 CRH 对甲状腺轴的抑制实现的。该组动物下丘脑 TRH 含量低于对照动物，同时，尽管 BAT 中 T₄5 - D 活性大幅度增加，血清中 T₃、T₄ 水平仍然下降，推测 CRH 可能通过抑制下丘脑 TRH 合成和释

放, 从而抑制了甲状腺的激素分泌。而甲状腺激素是 UCP1 基因表达不可缺少的^[18], 甲状腺激素通过位于 UCP1 基因上游 - 2300 被 27 bp 隔开的两个甲状腺激素效应元件 (TREs 一个是上游 TRE 或 up-TRE, 另一个是下游 TRE 或 dnTRE) 刺激 UCP1 基因表达。自然状况下, 细胞内 T_3 浓度低, T_3 受体形成同型二聚体, 结合于 upTRE 上, 对 UCP 基因的表达起抑制作用。当 T_3 浓度足够高时, T_3 受体与配体形成杂合二聚体, 代替同型二聚体, 该抑制作用才解除^[17]。因此, CRH 可能通过对 HPT 轴的抑制, 导致冷暴露长爪沙鼠 BAT UCP1 mRNA 的下调。

CRH 对下丘脑 TRH 合成和释放的抑制作用, 可能是通过直接作用于下丘脑室旁核 (PVN) TRH 神经元或是通过交感神经的间接作用实现的。亚显微结构研究曾观察到在 PVN 中, CRH 和 TRH 神经元突触可以相互作用^[19], 推测长爪沙鼠侧脑室注射 CRH 可能直接抑制 PVN 的 TRH 神经元。

CRH 还直接作用于脑内的交感神经中枢, 使其中的去甲肾上腺素能神经元释放大量的 NE, NE 是脑内 CRH 神经元的兴奋性递质, 这样便形成了 CRH - NE - CRH 的正反馈回路^[20], 进而激活外周交感神经系统, 这可能是长爪沙鼠血清中 NE 含量大幅度升高的原因之一。前人对实验大鼠的研究也表明, 中枢注射 CRH 刺激交感神经输出、产热和 BAT 活力^[9,12]。另外, 甲状腺轴功能的不足可代偿性地引起交感 - 肾上腺髓质系统对冷暴露的反应加强, 增加血中儿茶酚胺的水平, 进而增加产热, 以维持恒定体温^[21]。因此, 本研究中, CRH 导致血清 NE 水平的大幅度升高, 使能源物质大量消耗, BAT 重量进一步下降, 以至于 BAT 总蛋白含量也呈减少趋势。BAT 中 T_4 5'-D 受交感神经的调节, CRH 激活交感神经的同时, 也使该酶活力大幅度增加, 特殊活力 (pmol T_3 / mg protein/h) 和整体活力 (pmol T_3 / organ / h) 分别为对照的 2.39 倍和 1.85 倍, 但由于甲状腺分泌功能受到抑制, 所以血清中 T_3 水平明显低于对照。推测 CRH - NE - CRH 的正反馈, 也可能作用于 HPA 轴, 并使已经处于激活状态的肾上腺皮质分泌进一步加强, 血清皮质酮水平有所增加。皮质酮抑制 BAT 产热及 UCP1 mRNA 表达^[10,11], 这可能是该组动物 UCP1 mRNA 含量下降的另一原因。总之, CRH 作用于中枢, 可能一

方面抑制 HPT 轴的分泌, 进而抑制 UCP1 的基因表达, 另一方面又刺激交感神经, 增加产热。

-helical CRH 9 - 41 是 CRH 受体的拮抗剂, 本组实验试图分析阻断内源 CRH 对冷应激长爪沙鼠的作用, 但测定的各指标与低温对照组相比均未达到差异显著水平, 只有血清中皮质酮的含量高于对照 ($P = 0.057$), 前人对实验大鼠的研究也表明, -helical CRH 9 - 41 前处理, 并不能减少应激状态下血浆皮质酮的升高^[22], 但由于本实验中动物样本量较少, 2.5 μ g 的注射剂量也可能偏低, 因此 -helical CRH 9 - 41 对 CRH 的阻断作用有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 王煜, 黄晨西, 李庆芬, 孙儒泳. 冷暴露对长爪沙鼠 BAT 及 UCP mRNA 的影响 [J]. 北京师范大学学报 (自然科学版), 2000, 36 (5): 695 - 698.
- [2] Liu X T, Li Q F, Lin Q S, Sun R Y. Uncoupling protein 1 mRNA, mitochondrial GTP-binding, and T4 5' - deiodinase of brown adipose tissue in euthermic Daurian ground squirrel during cold exposure [J]. *Comp Biochem and Physiol Part A*, 2001, 128: 827 - 835.
- [3] Himms - Hagen J. Brown adipose tissue thermogenesis: Role in thermoregulation, energy regulation and obesity [A]. In: Schonbaum E, Lomax P eds. *Thermoregulation physiology and biochemistry* [C]. Pergamon Press Inc., USA, 1990. 327 - 414.
- [4] Zoeller R T, Kabeer N, Albers H E. Cold exposure elevates cellular levels of messenger ribonucleic acid encoding thyrotropin-releasing hormone in paraventricular nucleus despite elevated levels of thyroid hormones [J]. *Endocrinol*, 1990, 127 (6): 2955 - 2961.
- [5] Yang H, Yuan P, Wu V, Tache Y. Feedback regulation of thyrotropin-releasing hormone gene expression by thyroid hormone in the caudal raphe nuclei in rats [J]. *Endocrinol*, 1999, 140 (1): 43 - 49.
- [6] Uribe R M, Redondo J L, Charli J - L, Joseph - Bravo P. Suckling and cold stress rapidly and transiently increase TRH mRNA in the paraventricular nucleus [J]. *Neuroendocrinol*, 1993, 58: 140 - 145.
- [7] Arancibia S, Rage F, Astier H, Tapia - Arancibia L. Neuroendocrine and autonomic mechanisms underlying thermoregulation in cold environment [J]. *Neuroendocrinol*, 1996, 64: 257 - 267.
- [8] 刘小团, 李庆芬, 黄晨西, 孙儒泳. 长爪沙鼠冷驯化过程中甲状腺激素的变化 [J]. 兽类学报, 2001, 21 (2): 132 - 136.
- [9] LeFeuvre R A, Rothwell N J, Stock M J. Activation of brown fat thermogenesis in response to central injection of corticotropin releasing hormone in the rat. [J]. *Neuropharmacol*, 1987, 26 (8): 1217 - 1221.
- [10] Moriscot A, Rogerio R, Bianco A C. Corticosterone inhibits un-

- coupling protein gene expression in brown adipose tissue [J]. *Am J Physiol*, 1993, **256** (*Endocrinol. Meta.* 28): E81 - E87.
- [11] Strack A M, Horsely C J, Sebastian R J, Akana S F, Dallman M F. Glucocorticoids and insulin: Complex interaction on brown adipose tissue [J]. *Am J Physiol*, 1995, 268 (*Regul Integrative Comp Physiol*, 37): R1209 - R1216.
- [12] Hardwick A J, Linton E A, Rothwell N J. Thermogenic effects of the antigluco-corticoid RU - 486 in the rat: involvement of corticotropin - releasing factor and sympathetic activation of brown adipose tissue [J]. *Endocrinol*, 1989, **124** (4): 1684 - 1688.
- [13] Champigny O, Ricquier D J. Evidence from in vitro differentiating cells that adrenoceptor agonist can increase uncoupling protein mRNA level in adipocytes of adult humans: An RT - PCR study [J]. *Lipid Res.* 1996, 37: 1907 - 1914
- [14] Gowinski J, Iversen L L. Regional studies of catecholamines in the rat brain - [J]. *Neurochem*, 1966, 13: 655 - 669.
- [15] 白海波, 杜继曾, 郑筱祥. 精氨酸加压素对大鼠抗体产生和淋巴细胞增殖的上调作用 [J]. *生理学报*, 1999, **51** (4): 435 - 438.
- [16] 孙久荣, 曾月英, 蔡益鹏. 大鼠冷暴露过程中不同脑区和血清中单胺类递质及代谢物质的变化 [J]. *动物学报*, 1998, **44** (1): 41 - 46
- [17] Rabelo R, Reyes C, Schiffman A, Silva J E. Interactions among receptors, thyroid hormone response elements, and ligands in the regulation of the rat uncoupling protein gene expression by thyroid hormone [J]. *Endocrinol*, 1996, **137** (8): 3478 - 3487.
- [18] Reiter R J, Klaus S, Ebbinghaus C, Heldmaier G, Redlin U, Ricquier D, Vaughan M K, Steinlechner S. Inhibition of 5 - diiodination of thyroxine suppresses the cold - induced increase in brown adipose tissue messenger ribonucleic acid for mitochondrial uncoupling protein without influencing lipoprotein lipase activity [J]. *Endocrinology*, 1990, 126: 2550 - 2554.
- [19] Hisano S, Fukui Y, Chikanori - Aoyama M, Aizawa T, Shibasaki T. Reciprocal synaptic relations between CRF - immunoreactive and TRH - immunoreactive neurons in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus [J]. *Brain Res*, 1993, 620: 343 - 346
- [20] Asakura M, Nagashima H, Fujii S, Sasuga Y, Misonoh A, Hasegawa H, Osada K. Nihon [Influences of chronic stress on central nervous systems] [J]. *Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 2000, **20** (3): 97 - 105 (Article in Japanese with English summary).
- [21] Fukuhara K, Kvetnansky R, Cizza G, Pacak K, Ohara H, Goldstein D S, Kopin I J. Interrelations between sympathoadrenal system and hypothalamo - pituitary - adrenocortical/thyroid systems in rats exposed to cold stress [J]. *J Neuroendocrinol*, 1996, **8** (7): 533 - 541.
- [22] Emoto H, Koga C, Ishii H, Yokoo H, Yoshida M, Tanaka M. A CRF antagonist attenuates stress - induced increases in NA turnover in extended brain regions in rats [J]. *Brain Res*, 1993, **627** (1): 171 - 176.