

· 论 著 ·

甲状腺激素对新生大鼠海马 11β 羟基类固醇脱氢酶 I 型表达的影响

郝如松, 孙 刚* (第二军医大学基础医学部生理学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的: 探讨在大鼠脑的晚期发育过程中, 甲状腺激素对海马组织中糖皮质激素代谢酶 11β 羟基类固醇脱氢酶 I 型 (11βHSD1) 表达的影响及意义。方法: 将妊娠末期 SD 母鼠用丙基硫氧嘧啶 (PTU, 50 mg/d) 灌胃, 制造孕晚期甲状腺功能低下的模型; 应用 Western 免疫印迹法, 检测实验性妊娠晚期甲状腺功能低下对新生大鼠海马组织 11βHSD1 表达的影响; 应用薄层层析法和 Western 免疫印迹法, 观察三碘甲腺原氨酸 (triiodothyronine, T₃) 和人工合成的糖皮质激素 (Dex) 对体外培养的新生大鼠海马神经元 11βHSD1 活性和蛋白的影响。结果: 妊娠晚期甲状腺功能低下的母鼠分娩的新生鼠海马组织 11βHSD1 酶蛋白的表达量比对照组降低 41.6%。T₃ (10⁻⁹、10⁻⁸、10⁻⁷ mol/L) 及 Dex (10⁻⁷ mol/L) 分别上调原代培养的新生大鼠海马神经元中 11βHSD1 酶的活性达 29.4%、45.6%、60.9%、39.8%, 分别上调酶蛋白的表达量达 26.0%、43.2%、64.9%、41.1%, 而且 T₃ 与 Dex 之间表现出显著的协同效应, Dex (10⁻⁷ mol/L) + T₃ (10⁻⁷ mol/L) 组上调该酶活性达 114.1%, 上调该酶蛋白质表达达 123.3%。结论: T₃ 可以单独或与糖皮质激素协同作用上调 11βHSD1 酶的蛋白表达和活性, 从而进一步增加海马组织局部有活性的糖皮质激素的水平, 这可能是甲状腺激素调节脑发育成熟的机制之一。

[关键词] 甲状腺激素; 糖皮质激素; 11β 羟基类固醇脱氢酶 I 型; 海马

[中图分类号] R 335; Q 577; Q 572 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X (2004) 10-1062-04

Effects of thyroid hormone on expression of 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in hippocampus of newborn rats

HAO Ru-Song, SUN Gang* (Department of Physiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the effect of thyroid hormones on 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11βHSD1) in newborn rats' hippocampus. **Methods:** Hypothyroid model was induced with propylthiouracil (PTU, 50 mg/d) in SD rats in the last week of pregnancy and was confirmed by measuring the levels of thyroid hormones and thyrotropin (TSH) in the newborn rats' blood. Western blot was used to determine the expression of 11βHSD1 in hippocampus in newborn rats. Effects of triiodothyronine (T₃) and synthetic glucocorticoid dexamethasone (Dex) on expression of 11βHSD1 in primarily-cultured hippocampus were studied with thin layer chromatography (TLC) and Western blot. **Results:** Thyroid hormone levels decreased and TSH level increased in the newborn rats' blood. The expression of 11βHSD1 decreased by 41.6% in the hippocampus of newborn rats born to the mothers treated with PTU. T₃ (10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷ mol/L) and Dex (10⁻⁷ mol/L) up-regulated the activity of 11βHSD1 by 29.4%, 45.6%, 60.9% and 39.8%, respectively. T₃ (10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷ mol/L) and Dex (10⁻⁷ mol/L) increased the expression of 11βHSD1 protein by 26.0%, 43.2%, 64.9% and 41.1%, respectively. Synergistic effect of T₃ and DEX was observed in terms of regulating 11βHSD1: the expression of 11βHSD1 increased by 123.3% in the hippocampal neurons exposed to both Dex (10⁻⁷ mol/L) and T₃ (10⁻⁷ mol/L) and the activity increased by 114.1%. **Conclusion:** Thyroid hormone can up-regulate the expression of 11βHSD1 in the hippocampus during brain maturation either by itself or synergistically with glucocorticoid, thereby enhancing the action of glucocorticoids on the brain.

[KEY WORDS] thyroid hormone; glucocorticoids; 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1; hippocampus

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(10): 1062-1065]

* 糖皮质激素是促进神经系统发育和成熟的一种重要激素, 它与受体结合的量除与血浆中糖皮质激素水平、皮质醇结合蛋白 (CBG) 浓度有关外, 还受到脑细胞内受体前糖皮质激素代谢酶 11β 羟基类固醇脱氢酶 (11βHSD) 的调节。11βHSD 分为 11βHSD1 和 11βHSD2^[1]。11βHSD1 广泛存在于脑组织中, 如海马结构、皮层、小脑、垂体、下丘脑和脑干等^[2]。海马细胞的 11βHSD1 活性以还原酶为主, 它

将无活性的糖皮质激素代谢产物脱氢皮质酮转化为有活性的皮质酮^[3]。

* [基金项目] 国家重点基础研究规划“973”计划课题 (G1999054000)。

[作者简介] 郝如松 (1971-), 女 (汉族), 硕士生, 主治医师, 现在新疆马兰解放军第 546 医院内科, 马兰 841700

E-mail: haorusong@hotmail.com

* Corresponding author. E-mail: sunkang2000@yahoo.com



研究表明, 新生儿期给予甲状腺激素可以促进下丘脑-垂体-肾上腺轴的成熟, 使海马的糖皮质激素受体(GR)数目上调, 血清中糖皮质激素和 CBG 水平升高^[4], 提示对糖皮质激素作用的加强可能是甲状腺激素影响脑成熟的机制之一。Ricketts 等^[5]发现, 甲状腺激素可以上调肝细胞内 11β HSD 1 的活性。但甲状腺激素是否调节海马神经元 11β HSD 1 的表达, 从而加强糖皮质激素促进海马成熟的功能目前尚不清楚。本课题考察了孕晚期甲状腺功能低下对新生大鼠海马组织 11β HSD 1 表达的影响, 以及甲状腺激素对体外培养的新生大鼠海马神经元 11β HSD 1 表达和活性的影响。

1 材料和方法

1.1 甲状腺功能低下孕鼠模型的建立 采用 SD 大鼠(第二军医大学实验动物中心), 根据大鼠的发情周期将雌、雄大鼠合笼, 次晨阴道涂片发现精子作为受孕 0.5 d。受孕第 14 天开始灌胃直至孕期的第 22 天。实验组灌丙基硫氧嘧啶(PTU, 50 mg/d, 溶于蒸馏水 2 ml)^[6]; 对照组灌生理盐水(NS) 2 ml/d。灌胃在早晨 7:00~8:00 进行。让怀孕大鼠自然分娩, 在哺乳前立即称取新生鼠体质量。

1.2 血浆 T_3 、 T_4 和 TSH 水平的检测 采用放射免疫分析法(测定药盒由上海市放射免疫分析技术研究所提供)。简述如下: 将新生鼠断颈, 收集躯干血到已加有肝素的玻璃试管内, 轻轻混匀, 离心(3 000 r/min, 20 min), 取出血浆, 保存于 -20°C 。在测定管中加入待测血浆 0.05 ml, $^{125}\text{I-T}_3$ 0.1 ml, T_3 抗体 0.1 ml, 混匀后置 37°C 水浴 45 min, 然后加入 PR 试剂 0.5 ml, 混匀, 置室温 10 min, 再充分混匀后, 3 000 r/min 离心 15 min 以分离结合与游离的 $^{125}\text{I-T}_3$, 弃上清, 用 γ 计数器测定各管沉淀中的结合 $^{125}\text{I-T}_3$ 放射性。测定 T_4 和 TSH 的操作步骤同 T_3 。最后根据用已知甲状腺激素标准品建立的标准曲线计算样本中的甲状腺激素的水平。

1.3 海马组织 11β HSD 1 蛋白的检测 采用 Western 免疫印迹法检测。简述如下: 在取血的同时, 立即取出脑(脑组织的下端取至枕骨大孔水平)及各内脏组织, 用吸水纸吸去其表面的液体, 称取各器官的质量。在解剖显微镜下取海马组织, 放入含有蛋白酶抑制剂的组织裂解液[50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5, 150 mmol/L NaCl, 1% Triton X-100, 1% 脱氧胆酸钠, 0.1% 十二烷基磺酸钠(SDS)]中, 用

KS-600 细胞超声粉碎机(宁波科生仪器厂)碎裂细胞后, 迅速在 100°C 变性 10 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清, 用 Bradford 法测定上清液蛋白质浓度后, 取 50 μg 进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 用电转膜仪(Bio-Rad)转印凝胶上的蛋白质到硝酸纤维素膜(Amersham)上, 然后用 10% 的脱脂奶粉溶液室温封闭硝酸纤维素膜 2 h, 加入用 TBST(含 0.1% 吐温 20 的 TBS 溶液)新鲜配制的兔来源 11β HSD 1 抗体(加拿大西安大略大学杨开平教授惠赠), 滴度为 1:1 000, 室温孵育 1~2 h, 用 TBST 洗涤, 5 min \times 3 次, 加入羊抗兔 IgG 抗体(华美公司), 抗体滴度 1:1 000, 室温孵育 1 h 后, 用 TBST 洗涤, 5 min \times 3 次, 在膜上加增强化学发光剂(Perfect 公司), 在暗室内压 X 线片。同一 Western 杂交膜显示 11β HSD 1 条带后, 50 下用洗脱缓冲液洗涤硝酸纤维素膜 30 min, 然后用同样的方法显 β -actin 条带, β -actin 单克隆抗体(Sigma)的滴度为 1:10 000, 以此作为加样量的内参照。X 线片上的 11β HSD 1 和 β -actin 条带用图像分析系统(上海复日科技有限公司)读取光密度值, 并进行定量分析。以 11β HSD 1 / β -actin 条带密度值之比来纠正上样量的偏差。用该密度比值的高低表示 11β HSD 1 蛋白质的表达水平。

1.4 新生鼠海马神经元的原代培养 取正常出生第 1 天的大鼠脑, 在冰上分离海马, 做原代海马神经元培养, 方法参见文献^[7]。简述如下: 分离得到的海马组织剪碎后, 用 0.125% 的胰蛋白酶(Gibco) 37 $^\circ\text{C}$ 消化 20 min, 加培养液终止消化, 培养液为含 10% 胎牛血清(杭州四季青公司)和 10% 马血清(Gibco)的 DMEM(Gibco)。终止消化后将海马组织移到含 2 ml 培养液的试管内, 用抛光的玻璃管反复吹打, 静置 10 min。将细胞混悬液移到另一个试管内, 显微镜下进行神经元计数, 按 1×10^6 细胞/孔接种于预先涂有多聚赖氨酸(Sigma)的 6 孔培养板内。在 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后吸出培养液, 换用 B27 培养基以抑制胶质细胞的生长和促进神经元生长, 每 2 d 进行半量换液 1 次。

1.5 培养的新生鼠海马神经元 11β HSD 1 酶活性和蛋白质表达的测定 在神经元培养到第 5 天时, 换液并分别加终浓度为 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} mol/L 的 T_3 (Sigma)、终浓度为 10^{-7} mol/L 的 Dex(Sigma)和 10^{-7} mol/L 的 Dex + 10^{-7} mol/L 的 T_3 , 继续培养 24 h 测定酶活性; 培养 36 h, 测定蛋白表达。

1.5.1 酶活性的测定 加入 11β HSD 1 的底物脱氢皮质酮(10^{-6} mol/L, 含 ^3H -脱氢皮质酮 $3.08 \times$

10^{15} Bq), 加底物后继续孵育 12 h, 收集培养液。用乙酸乙酯提取培养液中的类固醇激素, 用薄层层析法(TLC)分离提取液内的底物脱氢皮质酮和产物皮质酮, TLC 的展开溶剂为氯仿/乙醇混合液(95/5, 体积比), 将分开的脱氢皮质酮和皮质酮在紫外灯下由 TLC 板刮下, 加液体闪烁液(2,5-二苯基噁唑 4 g, 1,4-双-[5-苯基噁唑基-2]-苯 40 mg, 萘 60 g, AR 级甲苯 1 000 ml, 无水乙醇 570 ml, 充分混合), 在液体闪烁计数器上计数。以脱氢皮质酮转化为皮质酮量的百分比作为衡量 11β HSD1 活性的指标。

1.5.2 蛋白表达的测定 弃去培养液, 用 PBS 冲洗后, 每孔加入 80 μ l Western 印迹上样缓冲液, 用细胞刮刀刮下细胞, 并收集到试管中, 置 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存, 待测。

1.6 统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间的比较采用方差分析, 两组间的比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 新生大鼠血浆 T_3 、 T_4 和 TSH 水平 新生大鼠躯干血浆样品经放射免疫分析法检测, PTU 组血浆 T_3 、 T_4 水平分别为(0.26 ± 0.03)、(2.91 ± 0.79) nmol/L, 比正常对照组(0.46 ± 0.03)、(5.87 ± 0.77) nmol/L 分别降低 43.3% 和 50.4%, 差异显著($P < 0.01$, $P < 0.05$); 两组 TSH 水平分别为(2.10 ± 0.10)和(1.61 ± 0.13) mIU/L, PTU 组比对照组 TSH 平均水平上升 30.5% ($P < 0.05$)。

2.2 PTU 对子代大鼠体质量和脑及各内脏组织质量的影响 妊娠末期接受 PTU 灌胃的大鼠, 其妊娠时间和产仔数无明显改变。但子代出生时 PTU 灌胃组的体质量、脑、肾、肺和心质量分别比生理盐水组下降 8.2%、8.1%、12.8%、20.2% 和 17.3% ($P < 0.05$, $P < 0.01$, 表 1)。

表 1 妊娠末期孕鼠 PTU 灌胃对子代新生大鼠体质量、脑和主要内脏器官质量的影响
Tab 1 Effect of prenatal PTU treatment on body mass and major organ mass in rats

Group	Body mass	Brain	Liver	Kidney	Lung	Heart
Control	6.055 ± 0.408 (n= 13)	0.279 ± 0.012 (n= 12)	0.247 ± 0.025 (n= 14)	0.085 ± 0.007 (n= 14)	0.139 ± 0.017 (n= 14)	0.045 ± 0.005 (n= 14)
PTU	$5.559 \pm 0.612^*$ (n= 32)	$0.257 \pm 0.013^{**}$ (n= 28)	0.245 ± 0.047 (n= 28)	$0.075 \pm 0.009^{**}$ (n= 28)	$0.111 \pm 0.022^{**}$ (n= 28)	$0.037 \pm 0.008^{**}$ (n= 28)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

2.3 PTU 对子代新生大鼠海马组织内 11β HSD1 表达的影响 Western 免疫印迹实验显示, 新生大鼠海马组织存在相对分子质量为 34 000 的 11β HSD1 蛋白质。与对照组相比, 出生于孕末期 PTU 灌胃母鼠的子代海马组织 11β HSD1 蛋白条带平均密度值为(12.60 ± 3.13), 比 NS 灌胃组的(21.59 ± 2.09) 减少了 41.6% ($P < 0.01$, $n = 7$)。

2.4 T_3 和 Dex 对原代培养的新生大鼠海马神经元内 11β HSD1 酶活性和蛋白表达的影响 酶活性测定显示, 10^{-9} 、 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L 的 T_3 组、Dex 组和 Dex(10^{-7} mol/L) + T_3 (10^{-7} mol/L) 组的脱氢皮质酮转化为皮质酮的百分比(%) 分别是(129.41 ± 5.00)、(145.65 ± 3.88)、(160.87 ± 4.63)、(139.84 ± 6.77) 和 (239.12 ± 7.22), 与对照组相比, 10^{-9} 、 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L 的 T_3 呈剂量依赖性使 11β HSD1 的酶活性分别增加了 29.4%、45.6% 和 60.9% ($P < 0.05$, $n = 5$), 10^{-7} mol/L 的 Dex、Dex(10^{-7} mol/L) + T_3 (10^{-7} mol/L) 使 11β HSD1 的酶活性分别增加了 39.8% 和 114.1% ($P < 0.05$)。

Dex + T_3 组与单独 T_3 (10^{-7} mol/L) 或 Dex (10^{-7} mol/L) 处理组相比差异有显著意义($P < 0.05$), 提示 Dex 与 T_3 合用对 11β HSD1 的酶活性具有显著的协同上调效应。

Western 免疫印迹实验显示, 原代培养的海马神经元暴露于浓度分别为 10^{-9} 、 10^{-8} 和 10^{-7} mol/L 的 T_3 后, 蛋白条带平均密度值依次为(126.03 ± 5.77)、(143.16 ± 7.79) 和 (164.89 ± 8.39), 11β HSD1 的酶蛋白的表达呈剂量依赖性与对照组比较分别增加了 26.0%、43.2% 和 64.9% ($P < 0.05$); 经 Dex (10^{-7} mol/L) 和 Dex (10^{-7} mol/L) + T_3 (10^{-9} mol/L) 处理后, 蛋白条带平均密度值分别为(141.08 ± 6.24) 和 (223.32 ± 7.53), 11β HSD1 的表达量分别增加了 41.1% 和 123.3% ($P < 0.05$); Dex + T_3 组与单独 T_3 或 Dex 处理组相比, 差异显著, 提示 Dex 与 T_3 合用对 11β -HSD1 表达具有显著的协同上调效应。

3 讨论

相对人类来说, 啮齿类的脑发育发生得较晚, 例

如, 出生时大鼠的脑发育阶段相当于第 5~6 个月的人类胎儿脑的发育, 出生后第 10 天的大鼠脑的发育阶段相当于人类出生时的脑发育。所以围产期大鼠脑组织是考察人类妊娠晚期脑组织成熟的理想模型^[8]。

研究表明, 人类甲状腺激素的合成可能开始于妊娠第 10~12 周, 血浆 T_3 要到第 15 周才能测出^[8]。大鼠的甲状腺于妊娠第 17.5~18 天开始分泌甲状腺激素^[9]。人类和啮齿类母体的甲状腺激素都可以通过胎盘进入胎儿血循环^[8]。因此人类和啮齿类的孕早期, 母体提供的甲状腺激素是子体甲状腺激素的唯一来源; 在孕晚期, 子体甲状腺开始合成和分泌甲状腺激素以后, 仍有相当数量的母体甲状腺激素经胎盘转运到子体^[8]。PTU 是治疗甲状腺机能亢进的常用药物, 它抑制甲状腺合成甲状腺激素。由于 PTU 可以通过胎盘屏障进入胎儿血循环, 因此母体服用 PTU 就会导致母体和胎儿甲状腺功能被抑制。本实验发现给予 PTU 母鼠的新生鼠血浆 T_3 和 T_4 水平显著下降, 而 TSH 水平呈代偿性增加, 表明我们成功地建立了孕期甲状腺功能低下的模型。

本实验中给予 PTU 灌胃组母鼠所分娩的新生鼠体质量和脑、肾、肺、心的质量分别比生理盐水组下降 8.2%、8.1%、12.8%、20.2% 和 17.3%, 这一结果与 Morreale 等^[10] 实验相吻合。这些都有力地证明了甲状腺激素在胚胎发育成熟期参与物质代谢和能量代谢, 促进生长发育的重要性。

实验还发现, 给正常幼鼠注射 T_4 后, 血清皮质酮的水平上升; 抑制甲状腺功能则导致围产期大鼠肺部发育期的 GR 的表达上升现象消失^[11]。这说明甲状腺激素和糖皮质激素在子体发育成熟过程中有密切的联系。

胎鼠血清中皮质酮的水平于妊娠第 19 天到达峰值^[12], 分娩后急剧下降到极低的水平, 直到出生后的第 15 天才开始上升^[13]; 而胎鼠的甲状腺于妊娠第 17.5~18 天开始分泌甲状腺激素^[9]。本实验与 Seckl 等^[8] 的工作都证实了糖皮质激素可使海马组织 11β HSD1 的表达和活性增加。另外本实验发现, 甲状腺激素能促进海马神经元 11β HSD1 的表达和活性。由于 11β HSD1 具有促进无活性的糖皮质激素代谢产物转化为有活性的糖皮质激素的作用, 因此本实验的结果提示在妊娠晚期, 甲状腺激素可以在海马组织内放大糖皮质激素的作用, 并且甲状腺激素和糖皮质激素可能共同上调海马 11β HSD1 的表达, 从而达到促进神经元成熟的作用。海马存在 GR 和 MR 受体, 一般认为 MR 比 GR 对 GC 的亲合力较高, GR 作用的发挥需要较高浓度的 GC^[3]。

因此, 甲状腺激素对海马 11β HSD1 表达和活性的促进作用可能有利于 GC 与 GR 的结合。有实验证明, 在不同的发育阶段中, GC 可分别通过 MR 或 GR 介导的作用影响神经细胞中不同类型的神经诱导因子和神经营养因子的表达, 这些因子在突触信息传递、突触发育和可塑性中起重要作用^[4]。

[参考文献]

- [1] Seckl JR, Walker BR. Minireview: 11β hydroxysteroid dehydrogenase type 1 α tissue-specific amplifier of glucocorticoid action[J]. *Endocrinology*, 2001, 142(4): 1371-1376
- [2] Wan SL, Liao MY, Sun K. Postnatal development of 11β hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in the rat hippocampus[J]. *J Neurosci Res*, 2002, 69(5): 681-686
- [3] 万顺伦, 廖茂瑶, 郝如松, 等. 大鼠海马神经元内 11β HSD1 和 GR 的共存及其意义[J]. *生理学报*, 2002, 54(6): 473-478
Wan SL, Liao MY, Hao RS, et al. Colocalization of 11β hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and glucocorticoid receptor and its significance in rat hippocampus[J]. *Shengli Xuebao (Acta Physiol Sin)*, 2002, 54(6): 473-478
- [4] Scaccianoce S, Catalani A, Lombardo K, et al. Maternal glucocorticoid hormone influences nerve growth factor expression in the developing rat brain[J]. *Neuroreport*, 2001, 12(13): 2881-2884
- [5] Ricketts ML, Shoemith KJ, Hewison M, et al. Regulation of 11β hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in primary cultures of rat and human hepatocytes[J]. *J Endocrinol*, 1998, 156(1): 159-168
- [6] Ramia A, Patal AJ, Rabi EA. Thyroid hormone and development of the rat hippocampus: morphologic alterations in granule and pyramidal cells[J]. *Neuroscience*, 1986, 19(4): 1217-1226
- [7] Rajan V, Edwards CRW, Seckl JR. 11β hydroxysteroid dehydrogenase in cultured hippocampal cells reactivates inert 11β dehydrocorticosterone, potentiating neurotoxicity[J]. *J Neurosci*, 1996, 16(1): 65-70
- [8] 蔡东升, 苏青, 谢超, 等. 甲状腺激素调节脑发育分子机制的研究现状[A]. 见: 罗敏主编. 分子内分泌学(基础与临床)[M]. 北京: 人民军医出版社, 2003. 224-250
- [9] del Rey FE, Paster R, Mallo JJ, et al. Effects of maternal iodine deficiency on T_4 and T_3 contents of rat concepta, both before and after onset of fetal thyroid function[J]. *Endocrinology*, 1985, 117(5): 1033-1038
- [10] Morreale de Escobar G, Pastor R, Obregon MJ, et al. Effects of maternal hypothyroidism on the weight and thyroid hormone content of rat embryonic tissues, before and after onset of fetal thyroid function[J]. *Endocrinology*, 1985, 117(5): 1890-1900
- [11] Lu RB, Leberthal E, Lee PC. Regulation of rat pancreatic glucocorticoid receptor by thyroxine during development[J]. *Endocrinology*, 1988, 123(5): 2235-2241
- [12] Cohen A. Plasma corticosterone concentration in the foetal rat[J]. *Horm Metab Res*, 1973, 5(1): 66
- [13] Allen C, Kendall JW. Maturation of the circadian rhythm of plasma corticosterone in the rat[J]. *Endocrinology*, 1967, 80(5): 926-930

[收稿日期] 2004-03-04

[修回日期] 2004-07-14

[本文编辑] 尹茶