

程广超,杨 萍,赫 晨,等. 社会隔离对雌性小鼠动情周期及中枢 ER α 和 TH 免疫活性表达的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(14):197-201.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.14.046

社会隔离对雌性小鼠动情周期及中枢 ER α 和 TH 免疫活性表达的影响

程广超^{1,2}, 杨 萍¹, 赫 晨¹, 杨 斌¹, 王建礼^{1,2}

(1. 北方民族大学生物科学与工程学院, 宁夏银川 750021; 2. 国家民委生态建模与应用重点实验室, 宁夏银川 750021)

摘要:雌激素受体(ER α)和多巴胺(DA)可参与雌性动物动情周期调节,故本研究通过酪氨酸羟化酶(TH)标记 DA 神经元,探讨了社会隔离对雌性动情周期及 ER α 和 DA 的影响。成年雌性 ICR 小鼠社会隔离 10 d 后,检测其动情周期变化及动情期和动情间期中枢 ER α -IR 和 TH-IR 神经元表达。结果发现,社会隔离延长了雌鼠的动情前期和动情期($P < 0.05$),但对动情后期和动情间期没有影响;社会隔离和动情周期均会显著影响终纹床核(BNST)、内侧视前区(MPOA)和下丘脑弓状核(AR)的 ER α -IR 神经元表达($P < 0.05$),并对 AR 的 ER α -IR 表达和中脑腹侧被盖区(VTA)的 TH-IR 神经元表达有交互影响($P < 0.05$),表现为社会隔离减少动情期 AR 的 ER α -IR 表达($P < 0.05$),增加动情期和动情间期 TH-IR 表达($P < 0.05$),且对动情期的影响更明显。提示社会隔离会干扰雌鼠的动情周期,ER α 和 DA 在特定脑区的变化对此具有重要调制作用。

关键词:隔离;雌性小鼠;动情周期;雌激素;多巴胺;免疫活性表达

中图分类号: Q492 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)14-0197-05

雌性哺乳动物的动情周期分为动情前期(proestrus)、动情期(estrus)、动情后期(metestrus)和动情间期(diestrus)4 个阶段。在雌性的非妊娠生殖活动中,动情状态呈周期性变化,卵子的形成和性激素的分泌也呈周期性波动。研究发现,动情周期会影响雌性动物的行为和情绪,如配偶选择^[1]、焦虑水平^[2]、社会性学习^[3]、空间记忆或目标识别^[4-5]以及对成瘾药物的敏感性等^[6-7]。内稳态紊乱如免疫或炎症应激会干扰大鼠、母羊和猕猴(rhesus macaques)的排卵周期^[8-10]。此外,心理社会性应激也会抑制促性腺激素分泌。对猕猴研究发现,心理应激增加再结合其他应激源能干扰生殖激素分泌,破坏月经周期^[11-12];母羊的动情周期对于急性及反复的心理社会应激具有低抗性^[13]。动情周期的变化是下丘脑-垂体-性腺(hypothalamic-pituitary-gonadal,HPG)轴周期变化所致。雌激素 α 受体(estrogen receptor alpha,ER α)参与对 HPG 轴的调节,在调制生殖行为中具有关键作用^[14-15]。多巴胺(dopamine,DA)也会影响动情周期和排卵^[16]。作为一种心理社会性应激,长期社会隔离会影响啮齿动物的行为、情绪和神经内分泌反应^[17-18]。酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase,TH)是 DA 合成的限速酶,本研究探讨了长期社会隔离对雌性小鼠动情周期的影响及 ER α 和 TH 在动情期和动情间期的变化,以期探讨隔离应激对动情周期影响的可能机制。

收稿日期:2018-03-30

基金项目:国家自然科学基金(编号:31460565);宁夏优秀人才支持计划;宁夏回族自治区大学生创新计划(编号:QJCX-2017-033)。

作者简介:程广超(1990—),男,内蒙古赤峰人,硕士,主要从事行为生理学研究。E-mail:761408199@qq.com。

通信作者:王建礼,博士,教授,主要从事行为生理学研究。E-mail:wang_jianli@163.com。

1 材料与方法

1.1 试验动物

SPF 级 ICR 雌性小鼠由宁夏医科大学实验动物中心提供,饲养于北方民族大学生物科学与工程学院实验动物饲养房,塑料饲养笼(32 cm × 21.5 cm × 17 cm)饲养,饲料和饮水充足。室温 25 ℃,光—暗周期 12 h—12 h,食物、饮水充足。2016 年 5 月开始试验,小鼠 10 周龄,共 44 只,平均体质量约 32 g,其中 22 只进行单独饲养(社会隔离),另外 22 只进行群居饲养(每笼 4~6 只)。隔离 10 d 后,随机取隔离和群居鼠各 10 只检测动情周期,剩下 24 只检测动情期和动情间期的 ER α 和 TH 表达,共分为 4 组:隔离动情期组(IE, $n = 6$)、隔离动情间期组(ID, $n = 6$)、群居动情期组(CE, $n = 6$)和群居动情间期组(CD, $n = 6$)。

1.2 动情周期的检测

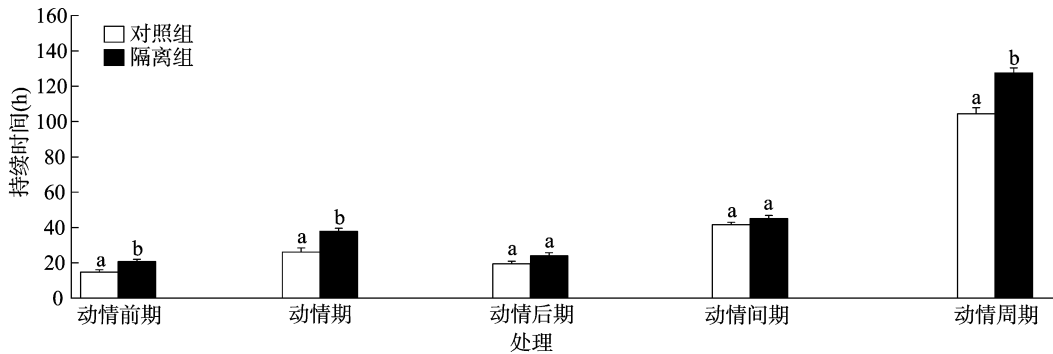
取小鼠阴道上皮组织涂片进行亚甲基蓝染色,根据上皮细胞形态特点确定动情周期各阶段^[19],并记录各阶段的持续时间。

1.3 免疫组织化学试验

动物经腹腔注射戊巴比妥钠麻醉。先用 4% 多聚甲醛进行灌注固定;取出脑组织放入 4% 多聚甲醛后固定过夜(4 ℃),后 4 ℃ 置于 30% 蔗糖溶液直至组织沉底。用冰冻切片机将脑作冠状切,片厚 40 μ m。用山羊血清封闭液 37 ℃ 湿盒内封闭 1 h。滴加由抗体稀释液稀释的一抗:ER α (1:100; sc-542, Santa Cruz, 中杉金桥生物技术有限公司分装)和 TH(1:2 000; ab112, Abcam, Hong Kong),4 ℃ 孵育 72 h。0.01 mol/L PBS 漂洗 5 min/次,共 3 次。滴加生物素化羊抗兔 IgG(博士德生物工程有限公司,武汉),37 ℃ 湿盒内孵育 1.5 h。0.01 mol/L PBS 漂洗 5 min/次,共 3 次。滴加 SABC 试剂(博士德生物工程有限公司,武汉),37 ℃ 湿盒内孵育

2.5 h。采用 0.01 mol/L 的 PBS 漂洗 10 min/次,共 4 次。DAB 显色剂显色。常规乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封片。

终纹床核 (bed nucleus of the stria terminalis, BNST)、内侧视前区 (medial preoptic area, MPOA)、下丘脑腹内侧核 (ventromedial hypothalamic nucleus, VMH) 和下丘脑弓状核 (arcuate hypothalamic nucleus, AR) 是 $ER\alpha$ 的重要分布区域。中脑腹侧被盖区 (ventral tegmental area, VTA)、未定带 (zona incerta, ZI) 和下丘脑室旁核 (paraventricular nucleus, PVN) 是 TH 的重要分布区域,因此本研究检测了这些脑区的 $ER\alpha$ 和 TH 神经元表达。各脑区参照 Paxinos & Franklin 的著书以定位^[20]。每只鼠选择 3 张连续的切片量化,利用显微测微尺,计算 1 mm² 内单侧脑区核团的阳性神经元数目。



柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下图同
图1 社会隔离后雌性小鼠动情周期变化

2.2 $ER\alpha$ -IR 神经元表达

隔离对 BNST ($F_{(1,20)} = 5.830, P = 0.025$)、MPOA ($F_{(1,20)} = 30.765, P < 0.001$)、AR ($F_{(1,20)} = 21.962, P < 0.001$) 的 $ER\alpha$ -IR 神经元表达有显著主效应,但对 VMH 的 $ER\alpha$ -IR 神经元表达没有主效应 ($F_{(1,20)} = 2.429, P = 0.135$);动情周期对 BNST ($F_{(1,20)} = 44.884, P < 0.001$)、MPOA ($F_{(1,20)} = 19.569, P < 0.001$)、AR ($F_{(1,20)} = 23.574, P < 0.001$) 的 $ER\alpha$ -IR 神经元表达有显著主效应,但对 VMH 的 $ER\alpha$ -IR 神经元表达没有主效应 ($F_{(1,20)} = 2.958, P =$

1.4 统计方法

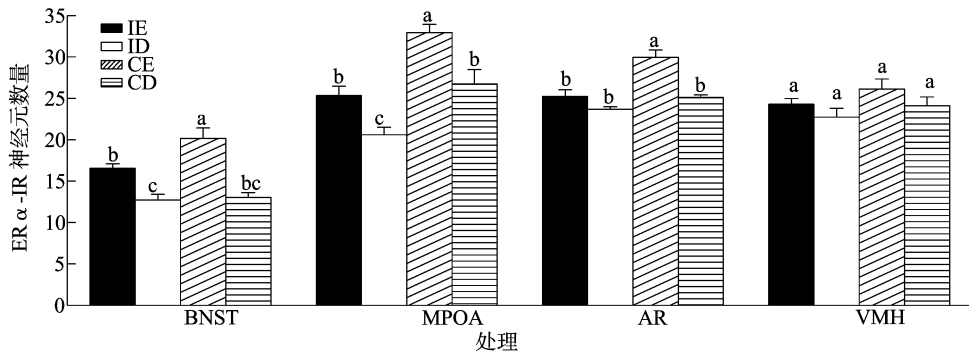
数据用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。采用独立样本 t 检验比较隔离组与对照组 (群居组) 的动情周期。以隔离和动情周期作为 2 个固定因素,采用 two-way ANOVA 分析及 post hoc 检验 $ER\alpha$ -IR 和 TH-IR 神经元数量的组间差异。

2 结果与分析

2.1 动情周期

与对照组相比,社会隔离后 ICR 小鼠动情前期 ($t_{18} = -3.086, P = 0.006$)、动情期 ($t_{18} = -3.933, P = 0.001$) 和动情周期的时间 ($t_{18} = -5.113, P < 0.001$) 延长,动情后期 ($t_{18} = -1.928, P = 0.07$) 和动情间期 ($t_{18} = -1.463, P = 0.161$) 的时间无显著变化 (图 1)。

0.101);隔离和动情周期对 AR 的 $ER\alpha$ -IR 神经元表达存在交互作用 ($F_{(1,20)} = 6.205, P = 0.022$),IE 组与 CE 组相比 $ER\alpha$ 显著减少 ($Mean\ difference = -4.722, P < 0.001$),ID 组与 CD 组相比 $ER\alpha$ 没有差异 ($Mean\ difference = -1.444, P = 0.136$),IE 组与 ID 组相比 $ER\alpha$ 没有差异 ($Mean\ difference = 1.555, P = 0.110$),CE 组与 CD 组相比 $ER\alpha$ 显著增加 ($Mean\ difference = 4.833, P < 0.001$) (图 2、图 3),其余脑区不存在交互作用。



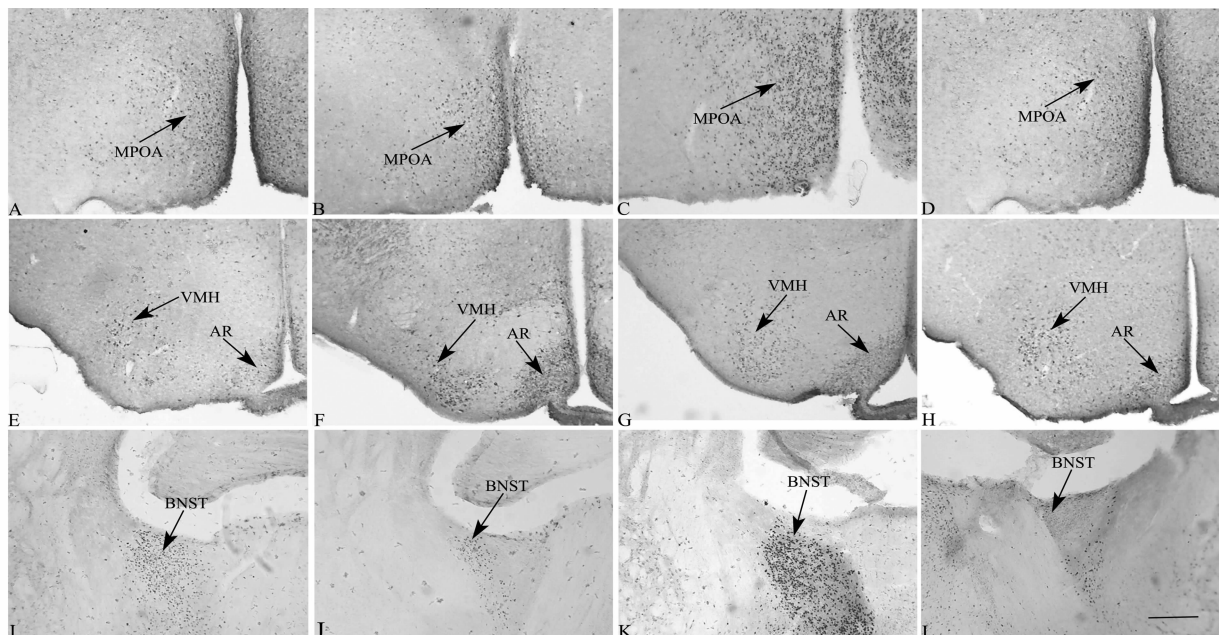
BNST—终纹床核; MPOA—内侧视前区; AR—下丘脑弓状核; VMH—下丘脑腹内侧核; IE—隔离动情期组; ID—隔离动情间期组; CE—对照动情期组; CD—对照动情间期组

图2 社会隔离后雌性小鼠动情期和动情间期 $ER\alpha$ -IR 神经元的表达

2.3 TH-IR 神经元表达

隔离对 VTA 的 TH-IR 表达有显著主效应 ($F_{(1,20)} = 12.578, P = 0.002$),但对 ZI ($F_{(1,20)} = 0.707, P = 0.410$) 和 PVN ($F_{(1,20)} = 3.201, P = 0.089$) 的 TH-IR 表达没有主效应;

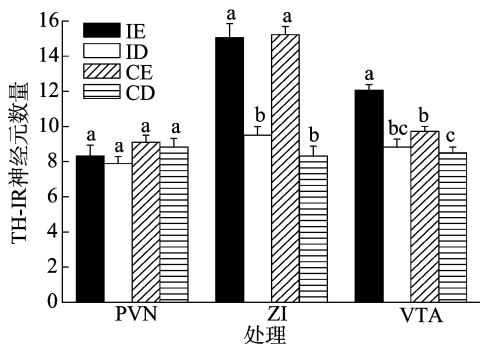
动情周期对 ZI ($F_{(1,20)} = 109.543, P < 0.001$) 和 VTA ($F_{(1,20)} = 34.935, P < 0.001$) 的 TH-IR 表达有显著主效应,但对 PVN 内 TH-IR 表达没有主效应 ($F_{(1,20)} = 0.563, P = 0.462$);隔离和动情周期对 TH-IR 在 VTA 表达存在显著交互作用



A, E, I—隔离动情期组; B, F, J—隔离动情间期组; C, G, K—对照动情期组; D, H, L—对照动情间期组。MPOA—内侧视前区; VMH—下丘脑腹内侧核; AR—下丘脑弓状核; BNST—终纹床核。比例尺=100 μm

图3 社会隔离后雌性小鼠动情期和动情间期 ERα-IR 神经元的免疫染色

($F_{(1,20)} = 7.075, P = 0.015$), IE 组与 CE 组相比 TH 显著增加 ($Mean\ difference = 2.333, P < 0.001$), ID 组与 CD 组相比没有显著性差异 ($Mean\ difference = 0.333, P = 0.538$), IE 组与 ID 组相比显著增加 ($Mean\ difference = 3.222, P < 0.001$), CE 组与 CD 组相比增加 ($Mean\ difference = 1.222, P = 0.032$) (图 4、图 5), 其余脑区不存在交互作用。



PVN—下丘脑室旁核; ZI—未定带; VTA—中脑腹侧被盖区。
IE—隔离动情期组; ID—隔离动情间期组; CE—对照动情期组; CD—对照动情间期组

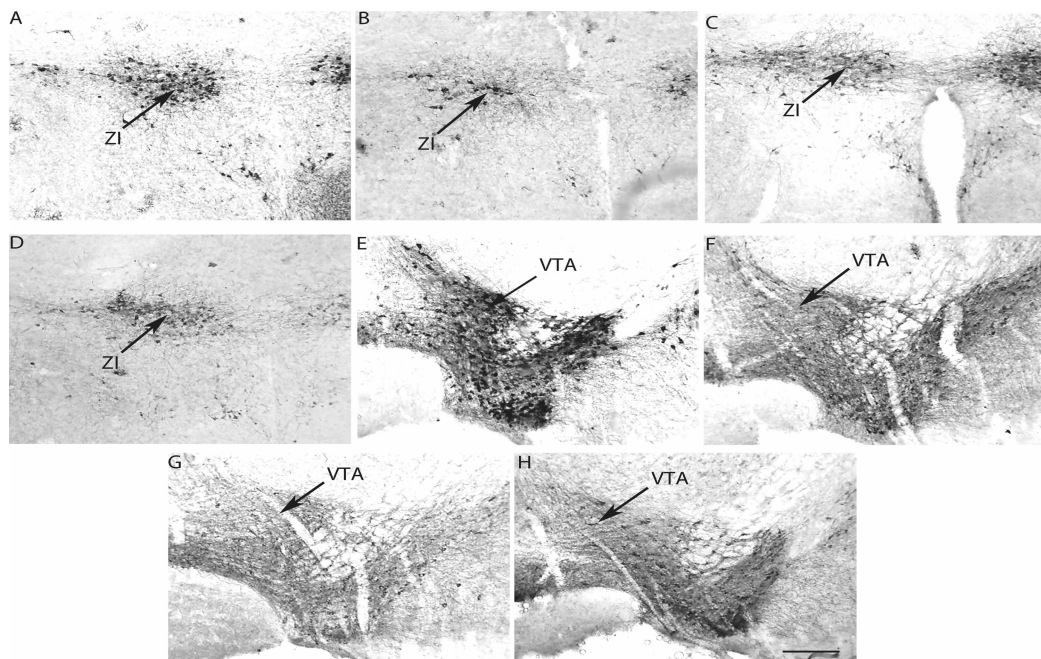
图4 社会隔离后雌性小鼠动情期和动情间期 TH-IR 神经元的表达

3 讨论

动情周期的规律性是卵巢生殖功能正常的直接标志。本研究发现, 社会隔离后雌性 ICR 小鼠的动情前期和动情期延长, 动情后期和动情间期没有变化, 总的动情周期变长。动情前期和动情期是排卵期, 动情后期是分泌孕酮及黄体形成的时期, 该结果暗示社会隔离延长了排卵时间。与本试验结果不同的是, 有研究发现隔离 14 d 的成年雌性 C57BL/6J 小鼠动情周期缩短并且肾上腺质量增加^[21]。有种观点认为, 在低群体密度下, 延长动情期能增加受孕的可能性, 这可能是对隔

离应激的一种适应性反应^[22]。生殖周期的形成是性类固醇激素通过作用于脑和垂体的正反馈和负反馈机制调制了黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 和促卵泡激素 (follicle stimulating hormone, FSH) 分泌产生的, 其中雌二醇扮演了关键作用。对于成年雌性, 促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 的分泌受到性激素正反馈和负反馈调节, 排卵前高水平的雌二醇通过正反馈使 GnRH 形成高峰, 诱导 LH 释放并促进排卵^[23]。应激对促性腺激素的分泌有损害, 皮质酮和促肾上腺皮质激素释放因子 (corticotropin-releasing factor, CRF) 可以干扰促性腺激素对性激素生成细胞的刺激作用^[24], 并且心理社会应激可通过减少 GnRH 抑制 LH 的分泌^[25]。因此, 本试验中小鼠动情前期和动情期的延长, 可能也是一种对隔离应激的适应, 通过延长动情期和动情前期补偿排卵的下降。

动情期隔离组与动情期群居组相比, 在 BNST、MPOA 和 AR 的 ERα-IR 表达减少; 动情间期隔离组与动情间期群居组相比 ERα-IR 表达仅在 MPOA 减少, 说明社会隔离在动情期和动情间期均会在一定脑区减少 ERα 的表达, 但动情期的影响似乎更广泛。BNST 的活动与焦虑和应激有关, BNST 的差异表明社会隔离更易引起动情期应激和情绪的变化。ERα 表达受到外周雌激素的影响, MPOA 区的雌激素受体 mRNA 水平在动情期比动情间期高^[26]; 对雌性布氏田鼠 (*Lasiopodomys brandtii*) 研究表明, 动情期较动情间期和动情前期在 MPOA 有更高的 ERα-IR 细胞^[27]。动情期和动情间期的雌二醇的基础水平不同, 这可能是社会隔离引起 ERα 在 2 个阶段表达水平不同的一个重要原因。MPOA 主要调节性行为, 并影响对异性气味的偏好^[28]。AR 可调节不同的神经内分泌功能, 其功能依赖于内在的不同神经内分泌细胞, 其中 GnRH 神经元分泌 GnRH^[29], AR 的 ERα 神经元对雌性小鼠动情周期和雌激素负反馈机制具有关键作用。雌二醇通过



A, E—隔离动情期组; B, F—隔离动情间期组; C, G—对照动情期组; D, H—对照动情间期组;
ZI—未定带; VTA—中脑腹侧被盖区。比例尺=100 μ m

图5 社会隔离后雌性小鼠动情期和动情间期 TH-IR 神经元的免疫染色

AR 细胞间接、跨突触地抑制 GnRH 神经元的活动,从而抑制 GnRH 分泌进入正中隆起(median eminence)^[30]。因此,社会隔离可通过调节 ER α 继而影响动情周期。至于 VMH,虽然参与雌性性行为^[31],但没有证据表明 VMH 神经元参与 GnRH 神经网络^[30]。

隔离组的动情期和动情间期分别与群居组的相比,VTA 的 TH 表达增加,隔离组的动情期与群居组的相比,ZI 的 TH 表达也有增加。此外,社会隔离和动情周期对 VTA 的 TH 表达有交互作用,隔离动情期组和群居动情期组分别与隔离动情间期组及群居动情间期组相比 TH 表达显著增加。DA 能神经元的胞体主要位于 VTA,TH 是 DA 合成的限速酶,因此,这些结果说明社会隔离增加了动情期和动情间期的 VTA 的 DA 合成,且在动情期这种影响更明显。对八齿鼠(*Octodon degus*)研究发现,早期亲本隔离及断乳隔离会增加伏核(NAc)核区和壳区的 TH-IR 神经纤维密度^[32];大鼠长期隔离后额叶皮质中 TH 活性也会增加^[33]。从断乳后至成年的社会隔离会引起大鼠在 VTA 和 NAc 的 DA 释放和摄取增强^[34]。DA 通过控制黄体生成激素释放因子(luteinizing hormone releasing factor, LRF)诱导 LH 释放^[35],并可刺激促卵泡激素释放因子(follicle stimulating hormone releasing factor, FSF)分泌和 LRF 释放^[36],LRF 可促进排卵,而 DA 水平的改变可以影响动情周期的持续时间,例如,高水平 DA 会延长大鼠的动情期^[16]。本研究中,隔离组在动情期高水平的 TH 表达,暗示了更多的 DA 释放,这可能是引起动情期延长的重要机制之一。此外,DA 可以调节情绪和社会行为^[37],边缘系统如 BNST、MPOA、VMH 的 ER α 也与调节社会行为有关^[38]。因此,隔离应激引起的动情期和动情间期 ER α 和 TH 的不同表达,改变动情周期,并可能影响到雌性在不同动情阶段的情绪和行为。

参考文献:

- [1] Zinck L, Lima S Q. Mate choice in mus musculus is relative and dependent on the estrous state[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e66064.
- [2] Marcondes F K, Miguel K J, Melo L L, et al. Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus - maze test [J]. Physiology & Behavior, 2001, 74(4/5): 435 - 440.
- [3] Choleris E, Clipperton - Allen A E, Gray D G, et al. Differential effects of dopamine receptor D1 - Type and D2 - Type antagonists and phase of the estrous cycle on social learning of food preferences, feeding, and social interactions in mice [J]. Neuropsychopharmacology, 2011, 36(8): 1689 - 1702.
- [4] Frick K M, Berger - Sweeney J. Spatial reference memory and neocortical neurochemistry vary with the estrous cycle in C57BL/6 mice[J]. Behavioral Neuroscience, 2001, 115(1): 229 - 237.
- [5] Paris J J, Frye C A. Estrous cycle, pregnancy, and parity enhance performance of rats in object recognition or object placement tasks [J]. Reproduction, 2008, 136(1): 105 - 115.
- [6] Sell S L, Dillon A M, Cunningham K A, et al. Estrous cycle influence on individual differences in the response to novelty and cocaine in female rats[J]. Behavioural Brain Research, 2005, 161(1): 69 - 74.
- [7] Anker J J, Carroll M E. Females are more vulnerable to drug abuse than males: evidence from preclinical studies and the role of ovarian hormones [M]//Biological basis of sex differences in psychopharmacology. Berlin, Heidelberg: Springer: 73 - 96.
- [8] Nappi R E, Rivest S. Effect of immune and metabolic challenges on the luteinizing hormone - releasing hormone neural system in cycling female rats: an evaluation at the transcriptional level [J]. Endocrinology, 1997, 138(4): 1374 - 1384.
- [9] Battaglia D F, Krasa H B, Padmanabhan V, et al. Endocrine

- alterations that underlie endotoxin - induced disruption of the follicular phase in ewes[J]. *Biology of Reproduction*,2000,62(1): 45 - 53.
- [10] Xiao E, Xia - Zhang L, Barth A, et al. Stress and the menstrual cycle: relevance of cycle quality in the short - and long - term response to a 5 - day endotoxin challenge during the follicular phase in the rhesus monkey[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*,1998,83(7):2454 - 2460.
- [11] Xiao E, Linna X Z, Ferin M. Inadequate luteal function is the initial clinical cyclic defect in a 12 - day stress model that includes a psychogenic component in the rhesus monkey [J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*,2002,87(5):2232 - 2237.
- [12] Williams N I, Berga S L, Cameron J L. Synergism between psychosocial and metabolic stressors; impact on reproductive function in cynomolgus monkeys [J]. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*,2007,293(1):270 - 276.
- [13] Wagenmaker E R, Breen K M, Oakley A E, et al. The estrous cycle of the ewe is resistant to disruption by repeated, acute psychosocial stress[J]. *Biology of Reproduction*,2010,82(6):1206 - 1215.
- [14] Couse J F, Yates M M, Walker V R, et al. Characterization of the hypothalamic - pituitary - gonadal (HPG) axis in female estrogen receptor knockout mice[J]. *Biol Reprod*,2002,66:98.
- [15] Ogawa S, Eng V, Taylor J, et al. Roles of estrogen receptor alpha gene expression in reproduction - related behaviors in female mice [J]. *Endocrinology*,1998,139(12):5070 - 5081.
- [16] Uemura H, Kobayashi H. Effects of dopamine implanted in the median eminence on the estrous cycle of the rat[J]. *Endocrinologia Japonica*,1971,17(6):91.
- [17] Berry A, Bellisario V, Capoccia S, et al. Social deprivation stress is a triggering factor for the emergence of anxiety - and depression - like behaviours and leads to reduced brain BDNF levels in C57BL/6J mice[J]. *Psychoneuroendocrinology*,2012,37(6):762 - 772.
- [18] 刘朝宝,王建礼,詹泊. 断乳后隔离对 BALB/c 小鼠的焦虑水平、社会行为及血清应激激素影响的性别差异[J]. *生命科学研究*,2016,20(4):325 - 332,357.
- [19] Byers S L, Wiles M V, Dunn S L, et al. Mouse estrous cycle identification tool and images[J]. *PLoS One*,2012,7(4):e35538.
- [20] Paxinos G, Franklin K. The mouse brain in stereotaxic coordinates [M]. 2nd ed. New York:Academic Press,2001:26 - 109.
- [21] Bronson F H, Chapman V M. Adrenal - estrus relationship in grouped or isolated mice[J]. *Nature*,1968,218(5140):483 - 484.
- [22] Shamolina T S, Pivina S G, Ordian N E. Effects of social isolation during puberty on reproductive functions and behavior of prenatally stressed female rats[J]. *Rossiiskii Fiziologicheskii Zhurnal Imeni I. M. Sechenova*,2010,96(6):598 - 608.
- [23] Moenter S M, Chu Z, Christian C A. Neurobiological mechanisms underlying oestradiol negative and positive feedback regulation of gonadotrophin - releasing hormone neurones [J]. *Journal of Neuroendocrinology*,2009,21(4):327 - 333.
- [24] Rivier C, Rivest S. Effect of stress on the activity of the hypothalamicpituitary - gonadal axis: peripheral and central mechanisms[J]. *Biology of Reproduction*,1991,45(4):523 - 532.
- [25] Wagenmaker E R, Breen K M, Oakley A E, et al. Psychosocial stress inhibits gonadotropin - releasing hormone pulses independent of cortisol action on the type II glucocorticoid receptor [J]. *Endocrinology*,2009,150(2):762 - 769.
- [26] Shughrue P J, Bushnell C D, Dorsa D M. Estrogen receptor messenger ribonucleic acid in female rat brain during the estrous cycle;a comparison with ovariectomized females and intact males [J]. *Endocrinology*,1992,131(1):381 - 388.
- [27] Pan Y, Xu L, Wang Z, et al. Expression of oestrogen receptor alpha in the brain of brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*): sex differences and variations during ovarian cycles [J]. *Journal of Neuroendocrinology*,2011,23(10):926 - 932.
- [28] Martinez L A, Petrulis, A. The medial preoptic area is necessary for sexual odor preference, but not sexual solicitation, in female Syrian hamsters[J]. *Hormones and Behavior*,2013,63(1):606 - 614.
- [29] Bouret S G, Draper S J, Simerly R B. Formation of projection pathways from the arcuate nucleus of the hypothalamus to hypothalamic regions implicated in the neural control of feeding behavior in mice [J]. *Journal of Neuroscience*,2004,24(11):2797 - 2805.
- [30] Yeo S H, Herbison A E. Estrogen - negative feedback and estrous cyclicity are critically dependent upon estrogen receptor - α expression in the arcuate nucleus of adult female mice [J]. *Endocrinology*,2014,155(8):2986 - 2995.
- [31] Holder M K, Hadjimarkou M M, Zup S L, et al. Methamphetamine facilitates female sexual behavior and enhances neuronal activation in the medial amygdala and ventromedial nucleus of the hypothalamus [J]. *Psychoneuroendocrinology*,2010,35(2):197 - 208.
- [32] Gos T, Becker K, Bock J, et al. Early neonatal and postweaning social emotional deprivation interferes with the maturation of serotonergic and tyrosine hydroxylase - immunoreactive afferent fiber systems in the rodent nucleus accumbens, hippocampus and amygdala[J]. *Neuroscience*,2006,140(3):811 - 821.
- [33] Toru M. Increased tyrosine hydroxylase activity in frontal cortex of rats after long - term isolation stress[J]. *L'Encéphale*,1982,8(2):315 - 317.
- [34] Yorgason J T, Calipari E S, Ferris M J, et al. Social isolation rearing increases dopamine uptake and psychostimulant potency in the striatum[J]. *Neuropharmacology*,2016,101:471 - 479.
- [35] Kamberi I A, Mical R S, Porter J C. Luteinizing hormone - releasing activity in hypophysial stalk blood and elevation by dopamine[J]. *Science*,1969,166(3903):388 - 390.
- [36] Kamberi I A, Schneider H P, McCann S M. Action of dopamine to induce release of FSH - releasing factor (FRF) from hypothalamic tissue *in vitro*[J]. *Endocrinology*,1970,86(2):278 - 284.
- [37] 王建礼,郇发道,赵清梅. 社会互动奖赏效应的多巴胺依赖机制[J]. *生命科学*,2011,23(5):423 - 428.
- [38] Newman SW. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network [J]. *Ann N Y Acad Sci*,1999,877:242 - 257.