

# GnRH 受体在羊腹腔肠系膜前神经节的分布及其意义

范洁, 陈文东, 郭晓, 王志豪, 明佳, 郭瑜龙, 徐永平\*

(西北农林科技大学 动物医学院, 杨凌 712100)

**摘要:** 本研究旨在观察促性腺激素释放激素受体(Gonadotropin-releasing hormone receptor, GnRHR)在羊腹腔肠系膜前神经节的分布特点,以探讨 GnRH 是否可以影响腹腔肠系膜前神经节(Celiac-superior mesenteric ganglia, CSMG)的活动。取雄性和雌性成年山羊的腹腔肠系膜前神经节各 5 个,经免疫组织化学 SP 法染色后,观察 GnRHR 在肠系膜前神经节的分布特点,并用 Image-Pro Plus 6.0 (IPP 6.0)软件图像半定量分析技术,分析腹腔肠系膜前神经节中的神经元和非神经元的 GnRHR 分布差异。结果表明:GnRHR 强阳性产物主要分布神经元的胞膜和胞质中;血管内皮细胞、神经纤维和卫星细胞中只有 GnRHR 弱阳性产物;GnRHR 在神经细胞和非神经细胞中的表达量呈极显著性差异( $P < 0.01$ )。上述结果表明,腹腔肠系膜前神经节对 GnRH 具有反应性,且神经元为其作用的靶细胞,提示 GnRH 可能通过影响腹腔肠系膜前神经节神经元的活动,进而影响其发出的交感节后神经纤维所支配的靶器官功能这一途径来调节胃肠的生理活动。

**关键词:** GnRH 受体;腹腔肠系膜前神经节;免疫组织化学 SP 法;山羊

中图分类号:S852.1

文献标志码:A

文章编号:0366-6964(2013)02-0289-06

## Distribution of GnRH Receptor in Celiac-superior Mesenteric Ganglia of Goat and Its Implications

FAN Jie, CHEN Wen-dong, GUO Xiao, WANG Zhi-hao, MING Jia, GUO Yu-long,

XU Yong-ping\*

(College of Animal Medicine, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to detect existence of Gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) in the celiac-superior mesenteric ganglia (CSMG) of goats, and determine the possible influence of GnRH on CSMG. Five CSMG were taken from mature female and male goats, respectively. The distribution characteristics of GnRHR were observed after immunohistochemical SP staining. Image-Pro Plus 6.0 (IPP 6.0) was used as the method of semi-quantitative image analysis to evaluate expression difference of GnRHR between neurons and non-neuron cells. The results showed that strong GnRHR immunoreactivity (GnRHR-ir) products mainly distributed on the membrane and whole cytoplasm of neurons and weak GnRHR-ir products on non-neuron cells. Expression difference of GnRHR between these two sorts of cells was highly significant ( $P < 0.01$ ). The wide distribution of GnRHR in CSMG suggests that GnRH can exert potential effects on CSMG and neurons are the major targets, which implies GnRH may regulate the functional activities of the gastrointestinal system by sympathetic nerve from celiac superior mesenteric ganglion.

**Key words:** GnRHR; celiac-superior mesenteric ganglia; immunohistochemical SP method; goat

收稿日期:2012-08-06

基金项目:国家自然科学基金项目(31072184);陕西省农业推广专项(336020907)

作者简介:范洁(1987-),女,四川内江人,硕士生,主要从事基础兽医学研究,E-mail:fanjie.1987@163.com

\*通信作者:徐永平,E-mail: xuyyp17@yahoo.com.cn

机体内脏的活动是神经系统和内分泌系统等协同调节的结果,其中神经调节具有自主性,其功能活动能直接影响所支配的内脏器官活动。支配腹腔胃肠道及肝脏、胰脏的神经主要来自腹腔肠系膜前神经节,为交感神经节,因此能对腹腔肠系膜前神经节产生影响的活性因子也能通过这条神经途径调节腹腔胃肠道的功能活动。促性腺激素释放激素(Gonadotropin-releasing hormone, GnRH)是一种 10 肽小分子生殖内分泌激素,是下丘脑-垂体-性腺轴中的上游内分泌激素,可调节机体的生殖活动。GnRH 及其类似药物具有很大的临床应用价值,在动物繁殖疾病中,GnRH 常用于治疗卵泡囊肿,同期发情处理中调节优势卵泡以及保护发育缓慢<sup>[1]</sup>;在人的疾病治疗中,GnRH 激动剂常用于治疗前列腺癌、子宫肌瘤、子宫内膜异位症及子宫内膜癌等。然而,试验研究及临床调查表明,GnRH 激动剂可增加某些心血管疾病(心脏病发作、心源性猝死、中风)和糖尿病的风险<sup>[2-3]</sup>,GnRH 激动剂的这些副作用表明 GnRH 对相应的内脏器官具有非生殖调控作用。GnRH 受体(GnRHR)是 GnRH 发挥作用的必要条件,研究发现除垂体前叶,中枢神经系统的海马、杏仁核、大脑皮质、小脑,以及内脏器官(如肝脏、胰脏、胃、肠道)GnRHR 也广泛存在<sup>[4-5]</sup>,表明 GnRH 参与高级中枢神经活动,也可通过其受体直接调节机体内脏的生理机能。

GnRH 受体虽在中枢神经系统及内脏器官的研究受到广泛关注,但是在外周神经系统的研究却很少。据文献报道,目前只调查过两栖动物的交感神经节存在 GnRH 受体,GnRH 以神经递质的形式作用于牛蛙的交感神经元,改变其自主活动<sup>[6]</sup>。笔者之前的调查发现颈中神经节存在 GnRH 受体<sup>[7]</sup>,结合 GnRH 受体存在于心脏及 GnRH 影响心肌细胞收缩能力方面的研究<sup>[8]</sup>,提出 GnRH 可以激素调节的方式直接作用于心脏,也可能通过作用于支配心脏的颈中神经节的神经调节途径间接作用于心脏,这或许在一定程度上解释了为什么 GnRH 在临床应用中会产生某些心血管疾病副作用。如前所述,已有研究表明 GnRH 可以激素调节的形式直接作用于胃肠道发挥非生殖调控作用,那么,GnRH 是否对胃肠道存在相似的调节机制呢?腹腔肠系膜前神经节是联系脊髓交感节前神经元与腹腔胃肠道及肝脏、胰脏的中继站,GnRH 是否具备通过影响腹腔肠系膜前神经节对腹腔胃肠道及消化腺进行神

经调节的途径尚未见有研究者提出。本试验检测了山羊腹腔肠系膜前神经节中是否存在 GnRH 受体,为阐明 GnRH 对胃肠道的调控机制和 GnRH 类药物的临床应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验试剂与仪器

主要试验试剂:一抗为兔抗大鼠 GnRHR 多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司)、免疫组化超敏 SP 试剂盒(福州迈新生物技术开发公司)、二氨基联苯胺(DAB)试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),内源性生物素阻断试剂盒(福州迈新生物技术开发公司)。试验仪器主要有 Leica RM2235 石蜡切片机(德国 Leica 公司)和 Motic 生物显微镜(厦门 Motic 实业有限公司)等。

### 1.2 山羊腹腔肠系膜前神经节切片制备及染色

山羊腹腔肠系膜前神经节均取自陕西杨凌屠宰户,刚宰杀的成年健康山羊共 10 头(雌雄各 5 头,雌性为非妊娠期山羊),取出腹腔肠系膜前神经节后,立即放入 4%多聚甲醛磷酸缓冲液中固定 24 h,自来水冲洗 12 h,梯度酒精脱水、二甲苯透明、石蜡包埋,制片。切片分 3 套,第 1 套用于 HE 染色作组织定位对照,第 2 套用于免疫组化 GnRHR 阳性细胞定位,第 3 套用于免疫组化空白对照,确定反应特异性。切片脱蜡至水,用柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0)抗原热修复后,按照内源性生物素阻断试剂盒说明书试剂 A 和试剂 B 各孵育 10 min。使用免疫组化超敏 SP 试剂盒进行免疫组化 SP 法染色,A、B、C、D 液依次各孵育 20 min。其中 B 液之后兔抗 GnRHR 多克隆抗体(1:200 稀释)4℃孵育过夜,空白对照组用 0.01 mol·L<sup>-1</sup> PBS(pH 7.4)代替一抗。以上步骤间用 0.01 mol·L<sup>-1</sup> PBS(pH 7.4)漂洗 3 次,每次 5min,D 液之后 DAB 显色 5 min。在第 2 套和第 3 套切片中取出部分切片做苏木精复染,常规脱水、透明、中性树脂封片。

### 1.3 图像分析及统计分析

Motic 生物显微镜下观察所有的腹腔肠系膜前神经节石蜡切片,使用显微镜标尺测量腹腔肠系膜前神经节 HE 染色石蜡切片中神经元的直径(为准确地反应神经元的大小,只对切片中含有细胞核的神经元的直径进行测量),并划分直径范围,统计每一个直径范围的神经元占神经元总数的百分比。免疫组织化学 SP 法染色的石蜡切片的每个样本随

机选取 10 张切片,每张切片随机取 5 个低倍镜视野(100×)和 5 个高倍镜视野(400×),拍照。应用 Image Pro Plus(IPP)软件图像半定量分析技术,将图像中呈现棕褐色、棕色、黄色的区域(GnRHR 染色)作为 AOI(Area of interest)进行光密度测定分析,测量平均光密度,SPSS20 统计软件分析腹腔肠系膜前神经节中神经元和非神经元的 GnRHR 分布差异。

## 2 结 果

### 2.1 山羊腹腔肠系膜前神经节 HE 染色结果

山羊腹腔肠系膜前神经节中神经元胞体(图 1 A)成群分布,过路神经纤维使之分离,胞体形态和体积大小不一,形状可呈卵圆形、梨形、多边形,其体积明显比非神经元大,根据神经元胞体体积大小可将神经元分为 3 型:平均直径在 15.0~24.9  $\mu\text{m}$  者为小型细胞;25.0~34.9  $\mu\text{m}$  者为中型细胞;35.0~60.0  $\mu\text{m}$  者为大型细胞,各直径大小范围的神经元数目占神经元总数的百分比见表 1,腹腔肠系膜前神经节的神经元以小型神经元为主,大型神经元很少。神经元胞核大(图 1, B),核仁明显,胞质中充满紫红色颗粒,为尼氏小体。切片中可见管径大小不等的(图 1, D)小血管,小血管中含红细胞。卫星细胞(图 1, C)分布于神经元胞体周围。过路神经纤维(图 1, E)呈粉红色,纵切面呈波浪形,施万细胞胞核(图 1, F)呈深蓝色,沿神经纤维分布。

表 1 山羊腹腔肠系膜前神经节内各直径大小范围的神经元占神经元总数的百分比

Table 1 Percentage of neurons defined in diameter-sized ranges in total neurons in celiac-superior mesenteric ganglia of goat

	细胞直径/ $\mu\text{m}$ Cellular diameter	百分比/% Percentage
小型神经细胞 Small neurons	15.0~24.9	57.6
中型神经细胞 Medium-sized neurons	25.0~34.9	38.6
大型神经细胞 Large neurons	35.0~60.0	3.8

### 2.2 山羊腹腔肠系膜前神经节免疫组织化学 SP 法染色结果

组织切片经免疫组织化学 SP 法染色后,无背景色或浅黄色,阳性判断标准:棕色为强阳性,褐色为中等阳性,黄色为弱阳性。对照组经苏木精复染后细胞核着蓝色,无其它着色(图 2D),表明 GnRHR 的 SP 法染色无非特异性着色。

试验组 SP 法染色结果显示 GnRHR 免疫阳性产物广泛分布于山羊腹腔肠系膜前神经节,神经元、卫星细胞、血管内皮细胞均呈不同程度的阳性。大、中、小型神经元的胞质中均有大量棕色颗粒样分布(图 2B、2C, a),呈强阳性;细胞核呈圆形空泡状,不着色(图 2B、2C, b);神经元的轴突呈黄色,有少量 GnRHR 分布(图 2C, c)。切片中可见多根管径大小不等的血管(图 2B, d),血管管径偏大的血管内皮细胞呈褐色(图 2B, e),表明有较多 GnRHR 分布,而血管管径偏小的血管内皮细胞呈浅黄色的背景色(图 2B, e'),GnRHR 不表达。卫星细胞(图 2B、2C, f)呈黄色,GnRHR 弱阳性表达,但试验组经苏木精复染后可见部分卫星细胞只有细胞核着蓝色(图 2C, f'),无 GnRHR。神经纤维也是部分着黄色,GnRHR 弱阳性(图 2B、2C, g),部分无着色(图 2C, g')。施旺细胞无着色,无 GnRHR(图 2C, h)。

IPP 6.0 软件图像半定量分析技术显示,GnRHR 在神经元和非神经元结构中的表达量呈极显著性差异( $P < 0.01$ ,表 2),GnRHR 主要存在于神经元中。

表 2 腹腔肠系膜前神经节 GnRHR 免疫组化染色的平均光密度值

Table 2 Mean density of GnRHR stained by immunohistochemistry in celiac-superior mesenteric ganglia

分组 Group	平均光密度 Mean density
神经元 Neuron	0.96±0.36**
非神经元 Non-neuron cells	0.08±0.01

\*\* . 神经元中的 GnRHR 与非神经元中的 GnRHR 呈显著性差异( $P < 0.01$ )

\*\* . Highly significant difference to non-neuron cells ( $P < 0.01$ )



A. 神经元; B. 神经元细胞核; C. 卫星细胞; D. 小血管; E. 过路神经纤维; F. 施万细胞  
 A. Neurons; B. Neuronal nuclei; C. Satellite cells; D. Small blood vessel; E. Passing nerve fibers; F. Schwann cells

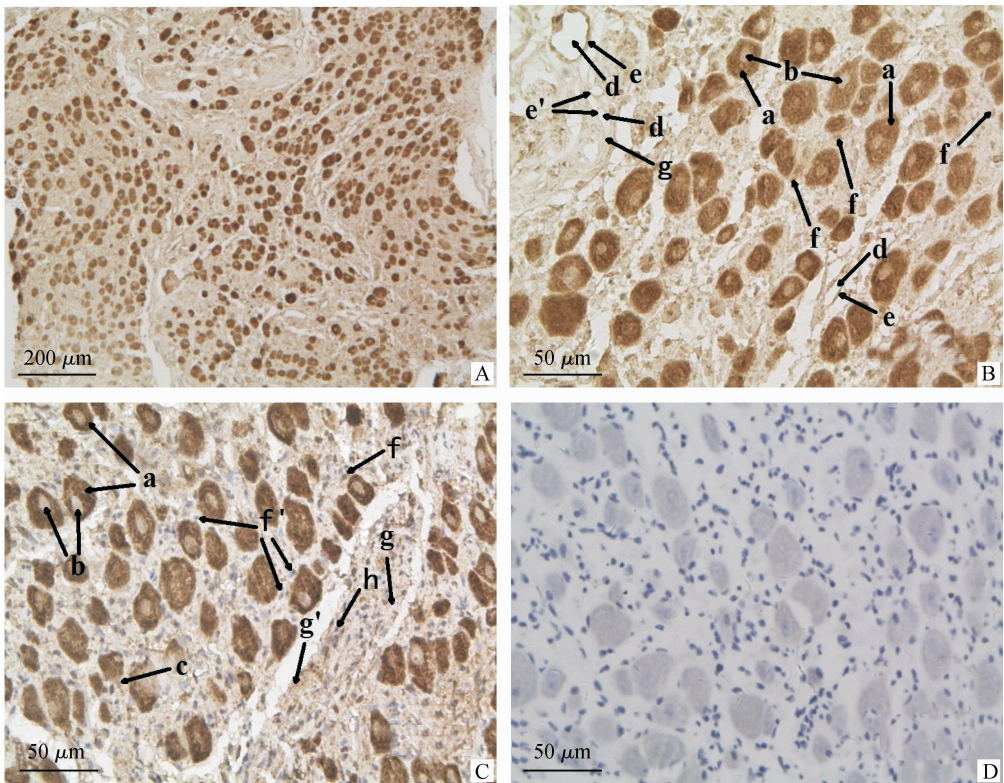
图 1 山羊腹腔肠系膜前神经节的 HE 染色  
 Fig. 1 HE staining of celiac-superior mesenteric ganglia

### 3 讨论

GnRH 受体属 G 蛋白偶联受体家族, GnRH 结合 GnRHR 后通过刺激特异的 G 蛋白来引发信号由胞外向胞内的转导, GnRHR 结合  $G_{\alpha q/11}$ , 激活磷脂酶 C, 导致相关蛋白的磷酸化。GnRHR 也可结合  $G_{\alpha i}$  蛋白, 并激活几种下游信号级联反应, 例如丝裂原激活蛋白酶 (MAPK)、磷脂酰基醇 3-激酶 (PI3K) 和核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), 诱导基因表达<sup>[9]</sup>。

#### 3.1 GnRH 及其受体在中枢神经系统的分布特点及作用

中枢神经系统中下丘脑的神经内分泌细胞分泌的 GnRH 作用于垂体前叶促性腺细胞的 GnRHR, 促进促黄体生成素 (Luteinizing hormone, LH) 和卵泡促激素 (Follicle stimulating hormone, FSH) 合



A、B. GnRHR 的免疫组织化学 SP 染色; C. GnRHR 的免疫组织化学 SP 染色及苏木精复染; D. GnRHR 的免疫组织化学 SP 染色对照组。a. 神经元细胞质; b. 神经元细胞核; c. 神经元轴突; d. 血管; e. 血管内皮细胞; f. 卫星细胞; g. 过路神经纤维; h. 施万细胞

A, B. Immunohistochemical SP staining of GnRHR; C. Immunohistochemical SP staining and hematoxylin counterstain of GnRHR; D. The contral. a. Neuronal cytoplasm; b. Neuronal nuclei; c. Axon; d. Blood vessel; e. Vascular endothelial cells; f. Satellite cells; g. Passing nerve fibers; h. Schwann cells

图 2 山羊腹腔肠系膜前神经节 GnRHR 的免疫组织化学染色  
 Fig. 2 Immunohistochemical staining of GnRHR in celiac-superior mesenteric ganglia of goat

成和释放,即通过下丘脑-垂体-性腺轴这条经典作用途径对生殖起中心调控作用。下丘脑外的中枢神经包括海马、大脑皮层、嗅球、小脑、脊髓等也有 GnRH 受体分布, GnRH 在非下丘脑中枢神经中发挥的作用与记忆、大脑皮层发育、性行为及运动有关<sup>[10]</sup>。大量研究表明 GnRH 可改变神经元的膜电位, GnRH 可促进嗅球冠状细胞轴突末梢谷氨酸释放,从而增强突触后神经元的去极化<sup>[11]</sup>;下丘脑 GnRH 神经内分泌细胞受 GnRH 的负反馈调节,其作用机制为 GnRH 使胞内钾离子外流,抑制细胞兴奋性<sup>[12]</sup>;激活海马锥体神经元上的 GnRH 受体可引发长时程增强兴奋性突触后电位<sup>[13]</sup>。由此可见, GnRH 受体可介导 GnRH 的多种生理效应,中枢神经系统广泛的 GnRH 受体分布,使得 GnRH 能参与机体的高级中枢活动。然而,关于 GnRH 作用于外周交感神经的报道不多,目前只在牛蛙的交感神经节上做过相关研究。对于直接支配机体腹腔消化器官的腹腔肠系膜前神经节是否也可作为 GnRH 的靶位点,进而 GnRH 以神经调节的途径来调节消化功能呢?本试验的结果表明, GnRH 阳性神经元广泛分布于腹腔肠系膜前神经节。

### 3.2 GnRHR 在腹腔肠系膜前神经节的分布意义

CSMG 是支配小肠、上段结肠及肝、胰的主要交感神经节,其节后神经元通过释放各种神经递质可调节消化系统平滑肌的收缩能力和相应内分泌激素、外分泌激素的合成和释放,因此能影响 CSMG 的因子,也可影响腹腔消化器官的生理机能。另有研究表明交感神经节中微血管的通透性较大,其神经节屏障比血脑屏障弱很多<sup>[14-16]</sup>,这暗示了血液中的 GnRH 具有透过 CSMG 中的血管壁作用于神经元和神经胶质细胞的可能。本试验研究 GnRH 受体在 CSMG 的分布,以此探讨 GnRH 是否可以作用于 CSMG,通过调节 CSMG 的生理状态进而调节此神经节所支配的腹腔消化器官。试验结果表明山羊 CSMG 中,神经元、卫星细胞、过路神经纤维、施万细胞和血管内皮细胞均存在量不等的 GnRHR 分布,其中神经元胞体 GnRH 受体分布最多。山羊 CSMG 中神经纤维和施万细胞上的 GnRHR 可能介导 GnRH 的神经营养作用;血管内皮细胞存在 GnRHR 提示 GnRH 可能以激素调节的方式调节山羊 CSMG 的血管微循环;神经元胞体是 GnRH 在 CSMG 中最重要的作用靶位点, GnRH 可作用于 CSMG 中的神经元,经神经调节途径调控 CSMG 所

支配的腹腔消化器官。

关于 GnRH 以激素调节途径调节胃肠道的功能活动已有大量报道。黄威权等认为 GnRH 是一种胃肠激素,并通过试验证明 GnRH 能调节胃泌素、生长抑素的合成分泌<sup>[17-18]</sup>。临床上长期应用 GnRH 可诱发糖尿病及胃肠疾病(如慢性肠假性梗塞、直肠癌)<sup>[19-22]</sup>,这些研究表明 GnRH 参与了对消化系统的生理调控和病理调控。将 GnRH 对胃肠道及消化腺的直接作用和此试验的研究结果结合起来,笔者推测 GnRH 经激素调节途径可作用于胃肠道和腹腔肠系膜前神经节,也可经神经调节途径通过腹腔肠系膜前神经节调节腹腔胃肠道和消化腺, GnRH 的这种调节方式反映了神经系统和内分泌系统对胃肠道的协同调控。但山羊 CSMG 神经元上的 GnRH 受体介导 GnRH 的效应机制是否类似于牛蛙交感神经节呢,能否如牛蛙交感神经节中, GnRH 作为神经递质,抑制电压依赖型外向钾离子电流,增强 N 型钙离子电流<sup>[22]</sup>,调节神经细胞兴奋性,影响交感神经元的自发性活动<sup>[23]</sup>,这尚需进一步研究。

### 参考文献:

- [1] ADAMS T E. Using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH analogs to modulate testis function and enhance the productivity of domestic animals [J]. *Anim Reprod Sci*, 2005, 88(1-2): 127-139.
- [2] TAYLOR L G G, CANFIELD S E, DU X L. Review of major adverse effects of androgen-deprivation therapy in men with prostate cancer [J]. *Cancer*, 2009, 115(11): 2388-2399.
- [3] KEATING N L, O'MALLEY A J, FREEDLAND S J, et al. Diabetes and cardiovascular disease during androgen deprivation therapy: Observational study of veterans with prostate cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 102(1): 39-46.
- [4] ALBERTSON A J, NAVRATIL A, MIGNOT M, et al. Immunoreactive GnRH type I receptors in the mouse and sheep brain [J]. *J Chem Neuroanat*, 2008, 35(4): 326-333.
- [5] HUANG W Q, YAO B, SUN L, et al. Immunohistochemical and *in situ* hybridization studies of gonadotropin releasing hormone (GnRH) and its receptor in rat digestive tract [J]. *Life Sci*, 2001, 68(15): 1727-1734.
- [6] TROSKIE B, KING J A, MILLAR R P, et al.

- Chicken GnRH II-like peptides and a GnRH receptor selective for chicken GnRH II in amphibian sympathetic ganglia [J]. *Neuroendocrinology*, 1997, 65 (6): 396-402.
- [7] 范 洁, 明 佳, 陈文东, 等. GnRH 受体在羊颈中神经节的分布特点[J]. *中国兽医科学*, 2012, 42(7): 737-741.
- [8] DONG F, SKINNER D C, WU T J, et al. The heart: A novel Gonadotrophin-releasing hormone target[J]. *J Neuroendocrinol*, 2011, 23(5): 456-463.
- [9] CHEUNG L W, WONG A S. Gonadotropin-releasing hormone: GnRH receptor signaling in extrapituitary tissues[J]. *FEBS J*, 2008, 275(22): 5479-5495.
- [10] SKINNER D C, ALBERTSON A J, NAVRATIL A, et al. Effects of Gonadotrophin-releasing hormone outside the hypothalamic-pituitary-reproductive axis [J]. *J Neuroendocrinol*, 2009, 21(4): 282-292.
- [11] KAWAI T, ABE H, AKAZOME Y, et al. Neuro-modulatory effect of GnRH on the synaptic transmission of the olfactory bulbar neural circuit in Goldfish, *Carassius auratus* [J]. *J Neurophysiol*, 2010, 104 (6): 3540-3550.
- [12] XU C, ROEPKE T A, ZHANG C, et al. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) activates the M-current in GnRH neurons: An autoregulatory negative feedback mechanism? [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(5): 2459-2466.
- [13] YANG S N, LU F, WU J N, et al. Activation of gonadotropin-releasing hormone receptors induces a long-term enhancement of excitatory postsynaptic currents mediated by ionotropic glutamate receptors in the rat hippocampus[J]. *Neurosci Lett*, 1999, 260 (1): 33-36.
- [14] CHAU Y P, LU K S. Differential permeability of blood microvasculatures in various sympathetic ganglia of rodents[J]. *Anat Embryol (Berl)*, 1996, 194 (3): 259-269.
- [15] CHAU Y P, CHIEN C L, LU K S. The permeability of capillaries among the small granule-containing cells in rat superior cervical ganglia: an ultrastructural lanthanum tracer study[J]. *Histol Histopathol*, 1991, 6(2): 261-268.
- [16] KIEMAN J A. Vascular permeability in the peripheral autonomic and somatic nervous systems: Controversial aspects and comparisons with the blood-brain barrier[J]. *Microsc Res Technol*, 1996, 35(2): 122-136.
- [17] 刘晓宁, 朱晓东, 赵 洁, 等. 胃腔内促性腺激素释放激素类似物对大鼠消化道胃泌素细胞功能的影响 [J]. *解剖学报*, 2004, 35(2): 190-193.
- [18] 刘晓宁, 黄威权, 高 彬. 胃腔内促性腺激素释放激素类似物对大鼠胃和十二指肠生长抑素细胞功能的影响 [J]. *解剖学报*, 2004, 35(3): 293-296.
- [19] OHLSSON B, VERESS B, JANCIAUSKIENE S, et al. Chronic intestinal pseudo-obstruction due to busirelin-induced formation of anti-GnRH antibodies[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(1): 45-51.
- [20] GILLESSEN S, TEMPLETON A, MARRA G, et al. Risk of colorectal cancer in men on long-term androgen deprivation therapy for prostate cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102(23): 1760-1770.
- [21] 叶晓莉, 付建芳, 曹宏伟, 等. 胰腺纤维化进程中大鼠胰腺 GnRH 及 GnRHR、Bcl-2 及 Bax、胰岛  $\beta$  细胞功能的变化 [J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35(8): 923-928.
- [22] 谢 菲, 姬秋和, 黄威权. GnRH 受体激动剂对肝组织块胰岛素反应性的影响 [C]//中华医学会内分泌学分会 2008 内分泌代谢性疾病系列研讨会暨中青年英文论坛论文汇编. 哈尔滨: 中华医学会内分泌学分会, 2008: 267-268.
- [23] FORD C P, DRYDEN W F, SMITH P A. Neurotrophic regulation of calcium channels by the peptide neurotransmitter luteinizing hormone releasing hormone[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(18): 7169-7175.
- [24] FORD C P, STEMKOWSKI P L, SMITH P A. Possible role of phosphatidylinositol 4,5, bisphosphate in luteinizing hormone releasing hormone-mediated M-current inhibition in bullfrog sympathetic neurons[J]. *Eur J Neurosci*, 2004, 20(11): 2990-2998.

(编辑 白永平)