

下丘脑腹内侧核腹外侧区激活 恶化心肌梗死后的心脏功能

刘子韩 刘志豪 周雨扬 许骁 李泽衍 周丽平 江洪

(武汉大学人民医院心内科 武汉大学心脏自主神经研究中心 武汉大学心血管病研究所 心血管病湖北省重点实验室,湖北 武汉 430060)

【摘要】目的 化学遗传精准激活愤怒情绪相关核团下丘脑腹内侧核腹外侧区 (VMHVL), 探究其对大鼠心肌梗死后心脏功能的影响。**方法** 10 只健康成年 SD 大鼠随机分为激活组 ($n=5$) 和对照组 ($n=5$)。通过脑立体定位技术向激活组大鼠大脑右侧 VMHVL 微量注射 rAAV-hSyn-hM3D(Gq)-EGFP-WPRE-pA, 在对照组相同的脑区注射等量的 rAAV-hSyn-EGFP-WPRE-pA。注射病毒 3 周后, 两组大鼠均开胸进行心脏左前降支结扎术构建心肌梗死模型, 连续 14 d 腹腔注射氯氮平一氧化氮 3.3 mg/kg, 激活成动转染病毒的 VMHVL 神经元。14 d 后, 检测心脏二维超声心动图, 取静脉血检测血清去甲肾上腺素浓度, 取 VMHVL 脑冰冻切片作免疫荧光染色。**结果** 氯氮平一氧化氮注射 14 d 后, 激活组的 VMHVL 神经元与对照组相比被显著激活 [标准化 C-FOS 阳性细胞计数: (1.40 ± 0.08) vs (1.00 ± 0.09) , $P < 0.01$]。检测静脉血血清发现激活组去甲肾上腺素水平显著升高 [$(4\ 372.26 \pm 221.10)$ pg/mL vs $(2\ 018.47 \pm 466.89)$ pg/mL, $P < 0.001$]。超声结果显示, VMHVL 激活可显著恶化心肌梗死后的心室重塑, 左室直径和容积进一步扩大 [左室收缩末期内径: (6.74 ± 0.50) mm vs (4.38 ± 0.48) mm, $P < 0.005$; 左室舒张末期内径: (8.36 ± 0.55) mm vs (6.54 ± 0.54) mm, $P < 0.01$; 左室收缩末期容积: (0.70 ± 0.15) mL vs (0.22 ± 0.08) mL, $P < 0.001$; 左室舒张末期容积: (1.28 ± 0.21) mL vs (0.65 ± 0.15) mL, $P < 0.000\ 1$], 心脏功能进一步降低 [左室射血分数: $(63.60 \pm 2.12)\%$ vs $(44.90 \pm 6.39)\%$, $P < 0.005$; 左室短轴缩短率: $(29.39 \pm 3.36)\%$ vs $(19.62 \pm 3.27)\%$, $P < 0.01$]。**结论** 化学遗传激活 VMHVL 可进一步恶化心肌梗死后心脏结构改变和功能下降。

【关键词】 化学遗传学; 下丘脑腹内侧核腹外侧区; 情绪应激; 心肌梗死; 心肌重构

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.04.021

Activation of Ventrolateral Part of Ventromedial Hypothalamus Aggravates Cardiac Function after Myocardial Infarction

LIU Zihan, LIU Zhihao, ZHOU Yuyang, XU Xiao, LI Zeyan, ZHOU Liping, JIANG Hong

(Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University; Cardiac Autonomic Nervous Research Center, Wuhan University; Cardiovascular Research Institute of Wuhan University; Hubei Key Laboratory of Cardiology, Wuhan 430060, Hubei, China)

【Abstract】 Objective We aimed to chemogenetically activate emotion-related nuclei in the ventrolateral part of ventromedial hypothalamus (VMHVL), and explore its effect on cardiac function in rats after myocardial infarction. **Methods** 10 healthy adult SD rats were randomly divided into activation group ($n=5$) and control group ($n=5$). The rAAV-hSyn-hM3D(Gq)-EGFP-WPRE-pA was microinjected into the right VMHVL by brain stereotactic technology, and the control group was microinjected with the same dose of rAAV-hSyn-EGFP-WPRE-pA in the right VMHVL. After three weeks, both of two groups underwent thoracotomy for ligation of the left anterior descending artery of the heart to establish a myocardial infarction model, following an intraperitoneal injection of Clozapine N-oxide (CNO, 3.3 mg/kg) for 14 days to activate VMHVL neurons. After 14 days, we measured two-dimensional echocardiography of the heart, collected venous blood for norepinephrine (NE) detecting and VMHVL brain frozen slices for immunofluorescence staining. **Results** Comparing with the control group, VMHVL neurons in the activation group were significantly activated by CNO [normalized C-FOS positive cells count: (1.40 ± 0.08) vs (1.00 ± 0.09) , $P < 0.01$], and serum NE was significantly increased in the activated group [$(4\ 372.26 \pm 221.10)$ pg/mL vs $(2\ 018.47 \pm 466.89)$ pg/mL, $P < 0.001$]. Cardiac structure remodeling was aggravated [LVIDs: (6.74 ± 0.50) mm vs (4.38 ± 0.48) mm, $P < 0.005$; LVIDD: (8.36 ± 0.55) mm vs (6.54 ± 0.54) mm, $P <$

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC1307802); 国家自然科学基金 (81970287, 81530011)

通信作者: 江洪, E-mail: Hongj0505@126.com

0.01; LVESV: (0.70±0.15) mL vs (0.22±0.08) mL, $P<0.001$; LVEDV: (1.28±0.21) mL vs (0.65±0.15) mL, $P<0.0001$], and cardiac function was decreased [LVEF: (63.60±2.12)% vs (44.90±6.39)%, $P<0.005$; LVFS: (29.39±3.36)% vs (19.62±3.27)%, $P<0.01$]. **Conclusion** Chemogenetic activation of VMHVL can significantly aggravate the cardiac dysfunction and structure alteration after myocardial infarction.

【Key words】 Chemogenetic; Ventrolateral part of ventromedial hypothalamus; Emotion stress; Myocardial infarction; Myocardial remodeling

心血管疾病是目前最常见的疾病及死亡因素之一^[1],而社会压力引起的长期情绪应激在增加心血管疾病患病风险和影响疾病预后中起着重要作用^[2]。目前已有大量临床研究表明,长期的抑郁情绪会通过改变机体神经免疫功能从而加重心脏功能障碍及促进心肌重构^[3],而良好地缓解压力可很好地促进患者心肌梗死后心肌损伤修复及改善预后^[4]。在这种压力下,大脑中主要激活的情绪核团包括下丘脑、杏仁核和孤束核等^[5]。下丘脑腹内侧核(ventromedial hypothalamus, VMH)是大脑中调控进食、能量代谢和情绪的关键脑区^[6-8]。下丘脑腹内侧核腹外侧区(ventrolateral part of ventromedial hypothalamus, VMHVL)是 VMH 中主要介导攻击行为和愤怒情绪的关键核团亚区,VMHVL 活性的升高可直接诱导大鼠产生攻击行为与愤怒情绪,而抑制其活性可降低大鼠的活动性^[9]。目前关于情绪应激行为对心脏影响的动物和临床研究已有大量报道,但较少关注情绪核团与心脏的关系,而研究这种关系最直接的方法就是特异性激活特定核团来观察其对心脏的影响。本研究通过化学遗传技术精准激活愤怒情绪相关核团 VMHVL,利用脑立体定位技术将激活型的化学遗传病毒[rAAV-hSyn-hM3D(Gq)-EGFP-WPRE-pA]精准表达在 VMHVL 脑区中,并于腹腔注射氯氮平一氧化氮(clozapine N-oxide, CNO)激活神经元上表达的 hM3D(Gq)受体从而激活 VMHVL,连续干预 14 d 后检测其对心肌梗死后心脏结构和功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物准备

本实验经武汉大学动物实验伦理委员会审核并批准。10 只健康成年 SD 大鼠(体重 200~250 g)由武汉大学实验动物中心提供,将 10 只大鼠随机分为激活组($n=5$)和对照组($n=5$)。在 SPF 环境分笼进行适应性饲养 1 周,每日给予充足标准饲料和水。实验前大鼠禁食禁饮 12 h,在实验过程中保持环境安静,室温保持在(22±2)℃。

1.2 VMHVL 脑立体定位注射

用 2% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,将头部剃毛并固定。碘伏消毒后切开头皮,用过氧化氢去除脑膜并暴露颅骨人字缝和矢状缝。定位针端以前囟为定位原点($X=0$ mm, $Y=0$ mm, $Z=0$ mm),查阅图谱可得 VMHVL 核团中心坐标为($X=0.8$ mm, $Y=-2.76$ mm, $Z=9.8$ mm)。根据 VMHVL 定位在右

侧颅骨钻孔,并将吸取病毒的微量注射针针尖调整至 VMHVL 所在坐标处。在激活组右侧 VMHVL 以 10 nL/min 缓慢注射 rAAV-hSyn-hM3D(Gq)-EGFP-WPRE-pA; AAV2/9 (2.0×10^{12} viral particles/mL, 200 nL, 枢密科技, 中国武汉)。在对照组相同位置注射等量 rAAV-hSyn-EGFP-WPRE-pA; AAV2/9。注射完毕停留 10 min 后缓慢退出微量注射针,完成定位注射。伤口缝合后将大鼠继续饲养 3 周,保证病毒高度表达。

1.3 心肌梗死模型构建

病毒注射 3 周后,将激活组与对照组的大鼠用戊巴比妥钠麻醉,仰卧位固定于实验台上,连接至小动物呼吸机并给予正压通气。经左前胸剃毛、消毒后打开胸腔,暴露心脏。打开心包,暴露左心耳,肉眼可见左心耳下方有一往下走行的左冠状动脉前降支,结扎后可见结扎部位以下心肌明显缺血。关胸后密切关注生命体征,等待大鼠清醒。

1.4 超声心动图测量

心肌梗死造模后,激活组与对照组均连续 14 d 腹腔注射 CNO[3 mg/kg, 2 mL/(次·d)]。14 d 后将大鼠麻醉后仰卧固定于实验台,左前胸剃毛,测定心脏二维超声心动图,分别测量左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)、左室舒张末期内径(LVEDd)、左室收缩末期内径(LVESd)、左室舒张末期容积(LVEDV)和左室收缩末期容积(LVESV)。

1.5 VMHVL 核团激活、血清去甲肾上腺素及免疫荧光检测

处死大鼠之前,打开腹腔并从下腔静脉收集外周血,以 3 000 r/min 离心 15 min 并提取血清,储存于-80℃环境下,之后采用 ELISA 试剂盒进行血清去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)含量测定,检测步骤根据试剂盒说明书操作。处死大鼠后,将脑组织完全取下,浸泡在多聚甲醛中保存,脱水后在 VMHVL 脑区取 5 μm 冰冻切片进行荧光分析。增强绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)为自发免疫荧光,直接在荧光显微镜下观察。使用 C-FOS 抗体(Abcam, 英国剑桥)和兔抗二抗对脑区 C-FOS 进行免疫荧光染色并在荧光显微镜下观察。全程操作注意避光。

1.6 统计学分析

本实验所有数据均以平均数±标准差表示。采用 GraphPad Prism 8.0 系统进行统计学分析与作图。先

对所有计量数据进行 Kolmogorov-Smirnov 检验以明确是否符合正态分布,再采用独立样本 t 检验进行组间比较,将 $P < 0.05$ 定义为差异具有显著性。

2 结果

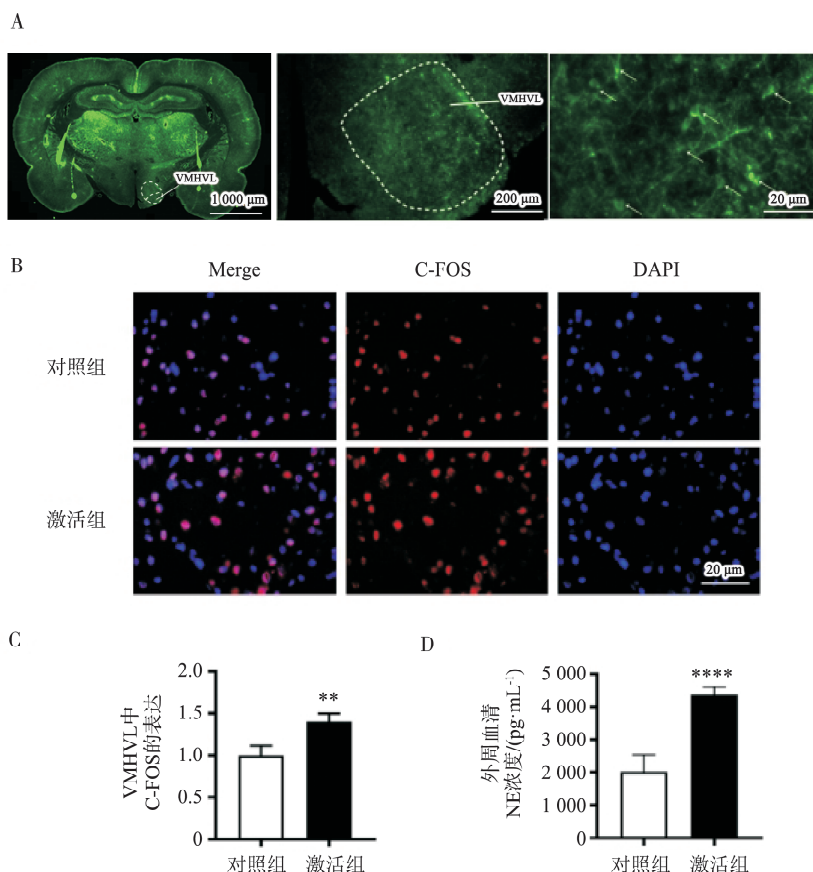
2.1 两组干预对 VMHVL 神经元活性的影响

激活组和对照组 SD 大鼠在接受 VMHVL 化学遗传病毒注射 3 周后,发现 VMHVL 处有大量绿色荧光蛋白表达,见图 1A。两组均腹腔注射 CNO 后,激活组 VMHVL 神经元活性显著高于对照组(标准化 C-FOS

计数,激活组 vs 对照组: 1.40 ± 0.08 vs 1.00 ± 0.09 , $P < 0.01$),见图 1B 和图 1C。

2.2 VMHVL 激活对外周交感神经活性的影响

激活组和对照组 SD 大鼠接受 CNO 注射 2 周后,取外周血清检测 NE 活性。发现激活组大鼠血清中的 NE 相较于对照组,NE 的浓度被 VMHVL 的化学遗传激活效应升高[激活组 vs 对照组: $(4\,372.26 \pm 221.10)$ pg/mL vs $(2\,018.47 \pm 466.89)$ pg/mL, $P < 0.001$]。见图 1D。



注:图 A 左一(1 000 μm):该视野下转染了化学遗传病毒的 VMHVL 层面全脑脑片 EGFP 荧光图,白色虚线区域为 VMH,白色箭头所指部位为 VMHVL;图 A 左二(200 μm):该视野下转染了化学遗传病毒的右侧下丘脑局部 EGFP 荧光图,白色虚线区域为 VMHVL;图 A 左三(20 μm):该视野下转染了化学遗传病毒的 VMHVL 局部 EGFP 荧光图,白色箭头所指为转染腺病毒后表达的 EGFP 的神经细胞;图 B(20 μm):两组大鼠 VMHVL 中 C-FOS 表达;图 C:两组 C-FOS 阳性细胞标准化计数, ** : $P < 0.01$;图 D:两组外周血清中 NE 浓度 (pg/mL), **** : $P < 0.001$ 。Merge:荧光图叠加 C-FOS+DAPI;DAPI:4',6-二脒基-2-苯基吡啶。

图 1 VMHVL 中化学遗传病毒转染、神经元激活情况以及外周循环交感神经激活情况

2.3 VMHVL 激活对心肌梗死后心脏结构和功能的影响

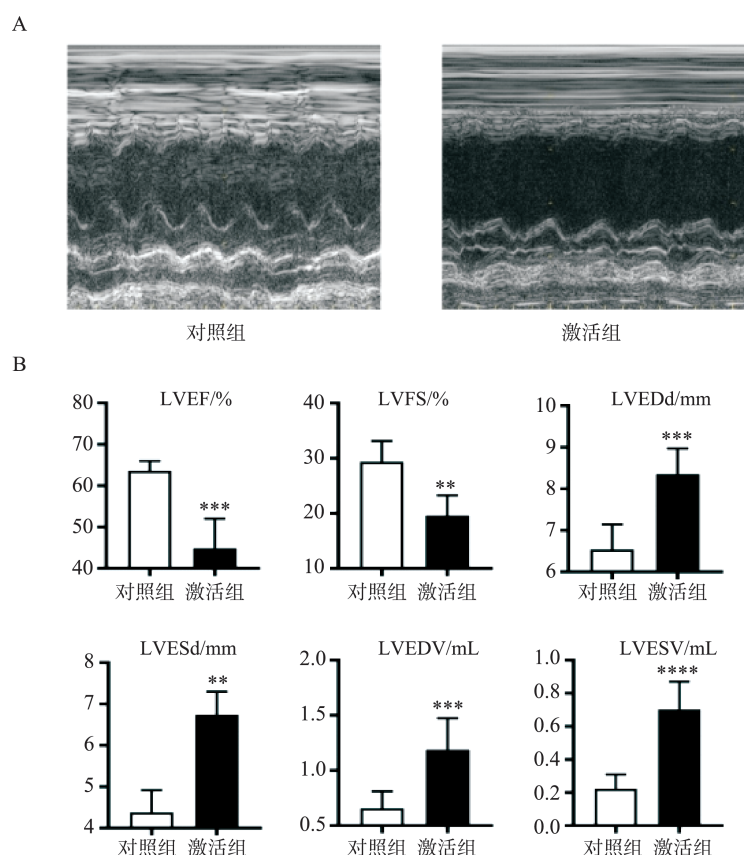
心肌梗死后两周,测定大鼠二维超声心动图,见图 2A。超声心动图显示,激活组大鼠对比对照组大鼠,LVEF 明显降低 [$(63.60 \pm 2.12)\%$ vs $(44.90 \pm 6.39)\%$, $P < 0.005$], LVFS 明显降低 [$(29.39 \pm 3.36)\%$ vs $(19.62 \pm 3.27)\%$, $P < 0.01$]。LVEDd 显著

增宽 [(8.36 ± 0.55) mm vs (6.54 ± 0.54) mm, $P < 0.01$], LVESd 也显著增宽 [(6.74 ± 0.50) mm vs (4.38 ± 0.48) mm, $P < 0.005$]。此外,LVEDV 明显增加 [(1.28 ± 0.21) mL vs (0.65 ± 0.15) mL, $P < 0.001$], LVESV 也明显增加 [(0.70 ± 0.15) mL vs (0.22 ± 0.08) mL, $P < 0.001$]。见图 2B。

3 讨论

下丘脑是大脑皮层下植物神经的最高中枢,可调节包括心脏在内的许多内脏的生理活动。有研究表明,下丘脑可从经典的情绪相关核团,例如杏仁核和海马中,接受神经纤维的投射,并已被证明其在复杂的情绪调节中起重要作用^[10-11]。在情绪应激的环境下,下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA 轴)被认为是导致循环糖皮质激素升高和自主神经活动增加的主要神经生物学机制,并在心血管应激反应中起重要作用^[12]。下丘脑中主要的与情绪相关的子核团包括下丘脑腹内侧^[11]、弓状核^[13]和下丘脑背内侧

核^[14]。VMH 是大脑中涉及情绪网络的一个相关脑区,且有研究表明 VMH 活性的改变在调节机体的血压和心率上有一定的作用^[15],VMH 活性变化也与机体自主神经系统的活性改变密切相关。研究表明,电刺激 VMH 会增加外周交感神经活性,而直接损毁 VMH 则会增加外周副交感神经活性^[12]。Lin 等^[9]用光遗传学和化学遗传学的方法,通过改变核团活性来改变小鼠的行为,从而证实位于 VMH 内的子核团 VMHVL 是介导攻击行为和愤怒情绪的关键核团。由此可见,中枢情绪核团的激活与外周自主神经系统活性是密切相关的。



注:图 A 为两组大鼠二维超声心动图对比;图 B 为经二维超声心动图检查所得各项心脏指标。*** 表示 $P < 0.005$, ** 表示 $P < 0.01$, **** 表示 $P < 0.001$ 。

图 2 VMHVL 激活对心肌梗死后心脏结构和功能的影响

在此基础上,本研究采用化学遗传方法中仅由定制药物激活的定制受体 (designer receptors exclusively activated by designer drugs, DREADDs) 来特异性激活 VMHVL。DREADDs 可通过惰性药物 (如小分子) 激活,以对细胞信号传导、神经元活动和行为进行长时程的调控^[16-17]。通过定向分子转化的过程,创建人突变型毒蕈碱型乙酰胆碱受体 (M1、M2、M3、M4 和 M5 型),该类受体对内源性配体乙酰胆碱无效,却能被 CNO 激活^[10]。选取激活型受体 hM3D (Gq),其激活将触发细胞膜 Ca^{2+} 的内流产生膜电位,从而诱发神经

元产生神经冲动,该效应会持续至结合的 CNO 被机体完全代谢消除。目前评价 DREADD 效应的指标主要有四种 (前两种为最常用的方法): (1) 急性离体脑切片电生理学检测^[18]; (2) 神经元活性相关的蛋白 C-FOS 含量^[19]; (3) 在体多通道微电极阵列神经信号技术检测神经元活性; (4) 基于钙成像技术的神经元活性检测^[20]。本研究选择 C-FOS 荧光染色作为判断神经元激活的指标^[21]。此外,腺病毒通常用作目的基因传递载体,用来在目标神经元中实现目标受体的高水平表达^[16]。目前化学遗传技术已广泛应用于神经科

学领域,并成为鉴定神经回路结构和功能的重要工具,用以特异性激活或抑制特定的中枢脑区^[22]。在本研究中,利用化学遗传技术成功将 hM3D(Gq)受体表达在 VMHVL 神经元上,并通过腹腔注射 CNO,激活 VMHVL 神经元细胞膜上的 hM3D(Gq)受体。有实验荧光结果显示,激活组 VMHVL 较对照组有更多的 C-FOS 表达,提示 VMHVL 神经元被成功激活。

在外周,自主神经系统在心血管功能的调节上发挥重要作用。生理状态下,机体交感神经与副交感神经的活性处于动态平衡,而绝大部分心脏疾病的发生和发展都与交感神经的过度激活有关^[23]。从大脑皮层到脊髓的各级神经系统,也分布着调节心脏活动的中枢。在大脑中,下丘脑室旁核(paraventricular nucleus, PVN)已被证明是整个交感神经活性和调节心血管功能的中心环节,而 PVN 功能的激活可增加心脏交感神经活性并加重心脏功能障碍和结构重构^[24]。最近的研究表明, PVN 与 VMHVL 之间存在神经纤维的双向投射,即二者之间存在结构与功能的连接^[25]。在本研究中,成功激活心肌梗死后大鼠的 VMHVL 两周,超声结果发现大鼠心脏功能在 VMHVL 激活后明显恶化,结构改变也较对照组明显。这提示, VMHVL 的激活可能会通过激活 PVN,提高机体的交感神经活性,打破交感神经与副交感神经的动态平衡,从而影响外周心脏的功能障碍和结构改变。值得一提的是, VMHVL 与心脏之间相互影响的自主神经通路需进一步的研究和探索。血清 NE 的结果提示,化学遗传激活 VMHVL 神经元确实引起外周交感神经指标的升高,提示一定程度的交感神经激活作用。

由此可见,机体的情绪应激对心肌梗死后心脏功能变化有着重要影响。本研究将中枢情绪脑区与外周器官的功能变化相联系,通过干预核团活性从而对外周心血管系统的功能和结构进行调控,而实验结果也提示 VMHVL 介导的慢性情绪应激可恶化心肌梗死后心脏功能。未来需进一步研究 VMHVL 情绪核团激活影响心脏的具体神经通路,并探索其潜在的分子机制,可在临床上为心肌梗死患者精准调控情绪,进一步改善心肌梗死后心脏功能的恢复,提供新思路和新的治疗方案,也为心血管疾病高风险及情绪易激动的患者提供新颖的心血管疾病预防策略。

参考文献

- [1] Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines[J]. *Circulation*, 2019, 140(11): e649-e650.
- [2] Nabi H, Kivimäki M, Batty GD, et al. Increased risk of coronary heart disease among individuals reporting adverse impact of stress on their health: the Whitehall II prospective cohort study[J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(34): 2697-2705.
- [3] Redwine LS, Wirtz PH, Hong S, et al. Depression as a potential modulator of Beta-adrenergic-associated leukocyte mobilization in heart failure patients[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 56(21): 1720-1727.
- [4] Blumenthal JA, Sherwood A, Smith PJ, et al. Enhancing cardiac rehabilitation with stress management training: a randomized, clinical efficacy trial[J]. *Circulation*, 2016, 133(14): 1341-1350.
- [5] 邵枫, 林文娟, 王玮雯, 等. 情绪应激对不同脑区 c-fos 表达的影响[J]. *心理学报*, 2003, 35(5): 685-689.
- [6] Nakamura Y, Nakamura K. Central regulation of brown adipose tissue thermogenesis and energy homeostasis dependent on food availability[J]. *Pflugers Arch*, 2018, 470(5): 823-837.
- [7] Contreras C, González-García I, Martínez-Sánchez N, et al. Central ceramide-induced hypothalamic lipotoxicity and ER stress regulate energy balance[J]. *Cell Rep*, 2014, 9(1): 366-377.
- [8] Remedios R, Kennedy A, Zelikowsky M, et al. Social behaviour shapes hypothalamic neural ensemble representations of conspecific sex[J]. *Nature*, 2017, 550(7676): 388-392.
- [9] Lin D, Boyle MP, Dollar P, et al. Functional identification of an aggression locus in the mouse hypothalamus[J]. *Nature*, 2011, 470(7333): 221-226.
- [10] Pessoa L. A network model of the emotional brain[J]. *Trends Cogn Sci*, 2017, 21(5): 357-371.
- [11] Goldfarb EV, Rosenberg MD, Seo D, et al. Hippocampal seed connectome-based modeling predicts the feeling of stress[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2650.
- [12] Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10(6): 397-409.
- [13] Sweeney P, Yang Y. Neural circuit mechanisms underlying emotional regulation of homeostatic feeding[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(6): 437-448.
- [14] Kataoka N, Shima Y, Nakajima K, et al. A central master driver of psychosocial stress responses in the rat[J]. *Science*, 2020, 367(6482): 1105-1112.
- [15] James C, Macefield VG, Henderson LA. Real-time imaging of cortical and subcortical control of muscle sympathetic nerve activity in awake human subjects[J]. *Neuroimage*, 2013, 70: 59-65.
- [16] Roth BL. DREADDs for neuroscientists[J]. *Neuron*, 2016, 89(4): 683-694.
- [17] Armbruster BN, Li X, Pausch MH, et al. Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(12): 5163-5168.
- [18] Alexander GM, Rogan SC, Abbas AI, et al. Remote control of neuronal activity in transgenic mice expressing evolved G protein-coupled receptors[J]. *Neuron*, 2009, 63(1): 27-39.
- [19] Krashes MJ, Koda S, Ye C, et al. Rapid, reversible activation of AgRP neurons drives feeding behavior in mice[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4): 1424-1428.
- [20] Stanculorum SM, Ruud J, Karakasioti I, et al. AgRP neurons control systemic insulin sensitivity via myostatin expression in brown adipose tissue[J]. *Cell*, 2016, 165(1): 125-138.
- [21] Burnett CJ, Krashes MJ. Resolving behavioral output via chemogenetic designer receptors exclusively activated by designer drugs[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(36): 9268-9282.
- [22] Guettier JM, Gautam D, Scarselli M, et al. A chemical-genetic approach to study G protein regulation of beta cell function in vivo[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(45): 19197-19202.
- [23] Puddu PE, Jouve R, Langlet F, et al. Prevention of postischemic ventricular fibrillation late after right or left stellate ganglionectomy in dogs[J]. *Circulation*, 1988, 77(4): 935-946.
- [24] Infanger DW, Cao X, Butler SD, et al. Silencing nox4 in the paraventricular nucleus improves myocardial infarction-induced cardiac dysfunction by attenuating sympathoexcitation and perinfarct apoptosis[J]. *Circ Res*, 2010, 106(11): 1763-1774.
- [25] Lo L, Yao S, Kim DW, et al. Connectional architecture of a mouse hypothalamic circuit node controlling social behavior[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(15): 7503-7512.

收稿日期: 2020-10-28