



犬副流感病毒的分离鉴定及部分基因序列分析

孙明¹, 刘巧荣¹, 秦亚嫒¹, 邓小雨¹, 杨欣艳¹, 刘伯华¹, 陈西钊^{1,2}

(1. 北京世纪元亨动物防疫技术有限公司, 北京 100085; 2. 中国动物疫病预防控制中心, 北京 100125)

【摘要】 目的 分离并鉴定犬副流感病毒 (canine parainfluenza virus, CPIV), 并对该病毒 N、HN 和 F 基因进行序列分析, 研究其遗传变异情况; 为 CPIV 诊断、治疗以及预防奠定分子生物学基础。方法 用 Vero 细胞接种感染 CPIV 阳性犬肺组织, 盲传 3 代, 观察病变情况, 收集 72 h 培养液进行 PCR 鉴定、血凝特性以及形态学观察。同时, 用 3 对特异性引物, 扩增 N、HN 和 F 全基因, 进行序列测定和分析, 并制作系统进化树。结果 从犬肺中成功分离出一株犬副流感病毒, 并命名为 QF20100726。该病毒能凝集豚鼠、猪、鸡和人 O 型血, 电镜观察病毒呈圆形、长丝状等形态多样、大小不等的颗粒状; 序列分析表明, 与人源、犬源等 10 株有代表性的副流感病毒基因相比, N 基因核苷酸同源率为 95.7% ~ 99.8%, 氨基酸同源率为 97.4% ~ 99.6%, 其中有两处氨基酸发生新的变异, 分别是第 257 位由 V 变成了 A, 第 301 位由 A 变成了 T; HN 基因核苷酸同源率为 95.5 ~ 99.8%, 氨基酸同源率为 96.3 ~ 99.6%, F 基因核苷酸同源率为 94.7% ~ 99.6%, 氨基酸同源率为 95.6% ~ 99.3%。有两处发生特异变异, 分别是 56 位由 T 变成了 S, 89 位由 T 变成了 M。结论 成功分离犬副流感病毒 QF20100726 分离株, 其血凝特性及超微形态特征均符合 CPIV 特性, N、HN 和 F 全基因生物进化树显示, 该分离株与犬副流感病毒分离株 08-1990 (登录号: KC237063) 亲缘关系最近; N 基因氨基酸在第 257 位 (由 V 变成了 A) 和第 301 位 (由 A 变成了 T), F 基因氨基酸在第 56 位 (由 T 变成了 S) 和 89 位 (由 T 变成了 M) 发生了特异性变异。这些数据将为 CPIV 的防控奠定基础。

【关键词】 CPIV; 病毒分离; 序列分析

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 02-0077-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.02.016

Isolation and identification of canine parainfluenza virus and partial gene sequence analysis of the isolate

SUN Ming¹, LIU Qiao-rong¹, QIN Ya-man¹, DENG Xiao-yu¹, YANG Xin-yan¹, LIU Bo-hua, CHEN Xi-Zhao^{1,2}

(1. Beijing ANHEAL Laboratories Co. Ltd, Beijing 100094, China; 2. China Animal Disease Control Center, Beijing 100125)

【Abstract】 Objective To isolate and identify canine parainfluenza virus (CPIV) from the a dog suspected of CPIV infection, then to analyze the gene sequence variation of N, HN and F genes and provide a molecular biology basis for the diagnosis, treatment, prevention and control of CPIV infection. **Methods** Samples of the lung tissue was taken from a dead dog suspected of CPIV infection, and were inoculated into Vero cells. CPE were observed after three blind passages, then the cell culture fluid after 72-hour-cultuere was assayed for further PCR identification, blood coagulation characteristics and morphological observation. Moreover, 3 pairs of oligonucleotide primers were designed, and N, HN and F complete genes of CPIV were amplified by RT-PCR from positive CPIV culture fluid. The genetic variation of the three genes were further analyzed by biological software, and phylogenetic trees were produced. **Results** One strain of CPIV was

[作者简介] 孙明 (1963 -), 男, 博士, 研究方向: 分子病毒学诊断技术。Email: sunming@anheal.com。

[通讯作者] 陈西钊 (1965 -), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 动物传染病与预防兽医学。Email: chenxizhao@anheal.com。

isolated and named QF20100726. The results showed that the CPIV strain could agglutinate Guinea pig, pig, chicken and human o type blood cells, and had the basic ultrastructural characteristics of parainfluenza virus. Compared with 10 representative CPIV genes, N, HN and F gene phylogenetic analysis of the QF20100726 CPIV gene showed 95.7% to 99.8%, 94.7% to 99.6% and 94.7% to 99.6% nucleotide identity, respectively, and 97.4% to 99.6%, 96.3 to 99.6%, 95.6% to 99.3% amino acid identity, respectively. Of these aa substitutions, 2 substitutions (V208A, A301T) occurred in the N open reading frame (ORF), and 2 substitutions (T56S, T89M) occurred in the F open reading frame (ORF). **Conclusions** One strain QF20100726 of CPIV is successfully isolated, and the phylogenetic trees of N, HN and F genes from the QF20100726 CPIV strain show close phylogenetic relationship with other CPIV isolates. The data provide a valuable molecular biology basis for the studies on prevention and control of CPIV infection.

【Key words】 CPIV, Viral isolation, Sequence analysis

犬副流感病毒感染 (canine parainfluenza virus infection) 是由犬副流感病毒 (canine parainfluenza virus, CPIV) 引起的犬的一种接触性传染病, 主要表现为发热、流涕和咳嗽。CPIV 是犬传染性呼吸系统疾病 (即“犬窝咳”) 的主要病源之一^[1]。常引起犬的支气管炎和支气管肺炎, 损害呼吸道上皮细胞, 给其他病原体的感染创造了条件^[2,3]。1967 年 Binn 等用犬肾细胞首次从患有呼吸道病的犬体内分离到犬副流感病毒, 此后在世界各地均有 CPIV 的报道, 严重影响着世界各国养犬业的发展。

CPIV 是单股、不分节段的负链 RNA 病毒, 约为 15246 bp^[4]。CPIV 基因组主要编码 6 种蛋白: 大蛋白 (L)、血凝素神经氨酸酶 (HN)、核衣壳蛋白 (NP)、融合蛋白 (F)、磷蛋白 (P) 和基质蛋白 (M), 其中 NP 蛋白是核衣壳蛋白的主要成分, 与病毒 RNA 直接结合, 高度保守, 在病毒感染时可引起强烈的抗体反应, HN 蛋白和 F 蛋白突出于囊膜形成纤突, 分别介导病毒吸附和穿入细胞。

该病毒在分类上属副粘病毒科 (*Paramyxoviridae*), 副粘病毒亚科 (*Paramyxovirinae*) 茹布拉病毒属 (*Rubulavirus*)。与同属的猴病毒 V 型 (SV5)、人 SV5 分离株及人副流感病毒-II 型 (hPIV-II) 抗原性密切相关^[5]。目前, 市场虽有此类疫苗, 该病仍然时有发生, 可能与该病毒的不断变异有关, 故分离当前的流行变异株, 了解序列变异情况对于预防该病的流行、诊断和治疗等具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 病料

临床诊断犬副流感病毒病死京巴犬, 年龄约 1 岁。临床表现为患犬精神萎靡、不喜食; 咳嗽、流涕、喘息等呼吸道症状, 伴有发烧。治疗无效死亡, 取肺脏进行处理。

1.2 细胞系

Vero 细胞为本实验室保存。

1.3 载体、菌株、试剂

pGEM-T-easy 购自 Promega 公司。DH5a 感受态细胞购自北京全式金生物技术有限公司。氨苄青霉素、购自 Sigma 公司。病毒 RNA 提取试剂盒和胶回收试剂盒均购自 Omega 公司。DMEM 培养液、新生牛血清为 Gibco 产品。

1.4 病毒分离

参照白文彬等介绍的方法^[6], 进行病毒分离, 并将病毒命名为 QF20100726。

1.5 病毒鉴定

1.5.1 血凝试验: 参考姚火春介绍的方法^[7], 分别采集豚鼠、鸡、猪抗凝血, 用 PBS (pH 7.4) 洗涤红细胞四次, 1 500 rpm 离心 10 min, 用 PBS (pH 7.2) 配成 1% 红细胞悬液进行血凝试验 (HA)。

1.5.2 RT-PCR 鉴定: 用引物对: 5'-AGTCAGAGTAGTTCAATAAGGACCTATC-3' 和 5'-TGGTGAATTGAGATGGACTTCAGG-3' 对所分离的病毒进行 RT-PCR 鉴定, 扩增程序: 42°C 45 min, 95°C 3 min, 95°C 30 sec, 55°C 45 sec, 72°C 1.5 min, 35 个循环后 72°C 延伸 10 min。

1.5.3 病毒的电镜观察: 参考殷震、金昌德等介绍的方法^[3,8], 对细胞培养液负染色, 进行电镜观察。

1.6 N、HN 和 F 基因的克隆测序

1.6.1 引物设计与合成: 依据 GenB 上的 CPIV 基因组序列, 分别针对 N 基因、HN 基因和 F 基因设计了引物。如下:

N1: 5'-AGTCAGAGTAGTTCAATAAGGACCTATC-3'
 N2: 5'-TGGTGAATTGAGATGGACTTCAGG-3'
 HN1: 5'-TTGCTGTCCTAACACCTGCTATAG-3'
 HN2: 5'-TGGTGAATTGAGATGGACTTCAGG-3'
 F1: 5'-CCAATAACTGGAATCACCAGCTTG-3'

F2:5'-CGAGACGGTCTTTCAATACTAGTTTC-3'

三对引物分别可扩增大小为 1 678 bp、1 964 bp、和 1 830 bp 的片段。引物由上海英骏生物技术有限公司合成。

1.6.2 扩增及克隆:

1.6.2.1 病毒 RNA 的提取: 参照 Omega 公司的病毒 RNA 提取试剂盒操作说明提取 PRV 总 DNA。

1.6.2.2 RT-PCR 扩增: 42℃ 45 min, 95℃ 3 min, 95℃ 30 s, 55℃ 45 s, 72℃ 2 min, 35 个循环后 72℃ 延伸 10 min。

1.6.2.3 PCR 产物电泳、克隆和序列测定: PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳鉴定, 用 Omega 公司胶回收试剂盒回收 PCR 产物, 克隆到 pGEM-T-easy, 经 PCR 鉴定阳性的重组质粒送上海英骏生物技术有限公司测序。

2 结果

2.1 病毒分离培养

病料接种到 Vero 细胞第 5 代 24 h 后出现典型细胞病变, 至第 5 天收毒时, 大部分细胞融合, 裂解

死亡, 培养液中碎片增多, 相同条件下的正常细胞无此变化(图 1 和图 2)。

2.2 血凝试验

病毒在 25℃ 条件能凝集豚鼠、猪、鸡和人 O 型红细胞。

2.3 RT-PCR 鉴定结果

对 Vero 细胞培养病毒进行犬副流感病毒的 RT-PCR 检测, 结果显示, Vero 细胞培养的病毒为 CPIV 阳性。

2.4 电镜观察

电镜照片显示, CPIV 为圆形, 有囊膜, 直径 80 nm 左右, 囊膜上有直径 8 nm ~ 10 nm 的纤突。病毒因囊膜的破损而形态不规则, 呈多形性、长丝状等长丝状核衣壳见图 3。

2.5 N、HN 和 F 基因克隆、测序

用设计的 N、F 和 HN 基因引物扩增的产物经琼脂糖电泳显示, 分别可见约 1 680 bp、1 970 bp、和 1 830 bp 左右的 3 个基因片段(图 4), 大小与 N、F 和 HN 蛋白基因相符, 预测结果证实所克隆的基因正确。

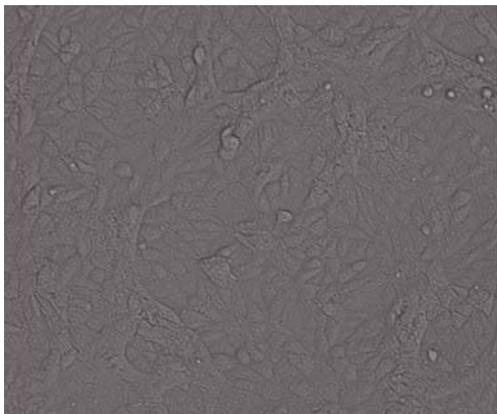


图 1 正常对照 vero 细胞

Fig.1 Normal control vero cells

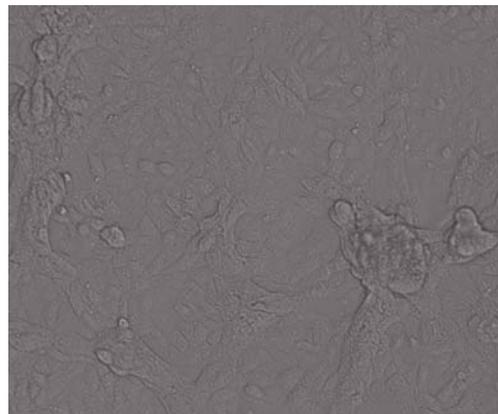


图 2 CPIV 接种 vero 后 24 h 细胞变化

Fig.2 Vero cells at 24 hours after CPIV inoculation

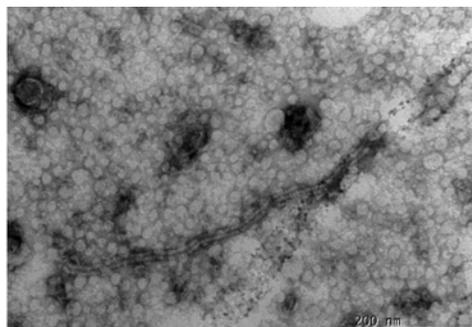
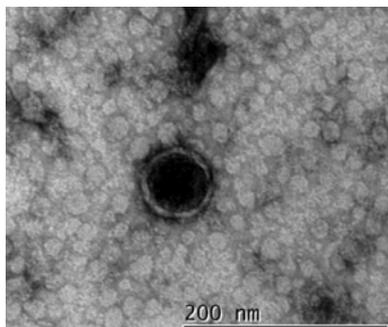
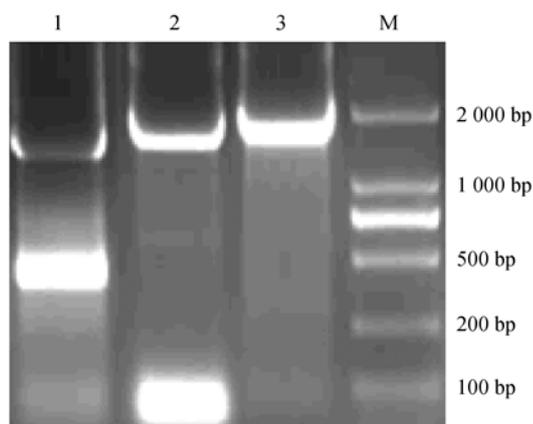


图 3 电镜下不同形态的病毒粒子(标尺 = 200 nm)

Fig.3 Different morphology of the virus particles observed under electron microscope(Bar = 200 nm)



1. N 基因, 2. F 基因, 3. HN 基因 M. Marker

图 4 N、F 和 HN 基因扩增

1. N gene, 2. F gene, 3. HN gene, M. marker

Fig. 4 Amplification of N, F and HN genes

2.6 N 序列同源性分析

与人源、犬源等 10 株有代表性的副流感病毒 N 基因相比,核苷酸同源性为 95.7% ~ 99.8%,氨基酸同源性为 97.4% ~ 99.6%。其中有两处氨基酸发生新的变异,分别是第 257 位由 V 变成了 A,第 301 位由 A 变成了 T。其中与人源副流感病毒分离株 LN(登录号:JQ743324)同源性最低为 97.4%,与犬源副流感病毒分离株 08-1990(登录号:KC237063)和 D277(登录号:KC237065)同源性最高均为 99.6%。用 DNAMAN 生物软件绘制系统进化树见图 5。

2.7 F 基因序列同源性分析

与人源、犬源等 10 株有代表性的副流感病毒 F 基因相比。核苷酸同源性为 94.7% ~ 99.6%,氨基酸同源性为 95.6% ~ 99.3%。有两处发生特异变异,分别是 56 位由 T 变成了 S,89 位由 T 变成了 M。其中与人源副流感病毒分离株 LN(登录号:JQ743324)同源性最低为 95.6%,与犬源副流感病毒分离株 08-1990(登录号:KC237063)同源性最高为 99.3%。F 基因系统进化树显示,该分离株与分离株 D277 和 08-1990 在一个分支上(图 6)。

2.6 HN 基因序列同源性分析

与人源、犬源等 10 株有代表性的副流感病毒 H 基因相比,核苷酸同源性为 95.5 ~ 99.8%,氨基酸同源性为 96.3 ~ 99.6%,其中与人源副流感病毒分离株 LN(登录号:JQ743324)同源性最低为 95.5%,与犬源副流感病毒分离株 D277(登录号:KC237065)同源性最高为 99.6%。HN 基因系统进化树显示,该分离株与 D277 和 08-1990 分离株在

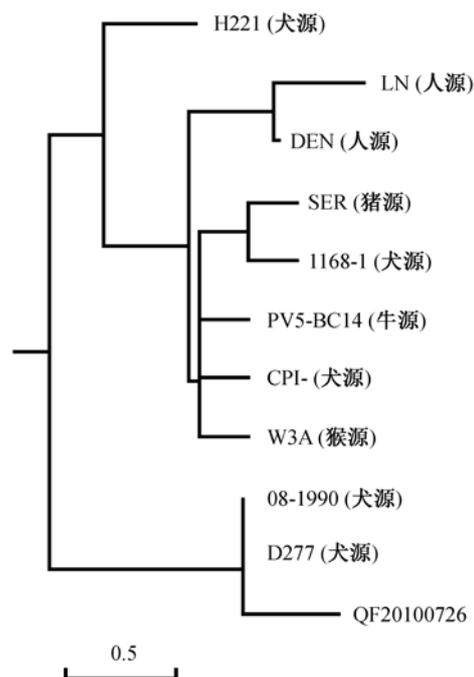


图 5 N 基因系统进化树

Fig. 5 The phylogenetic tree based on N gene

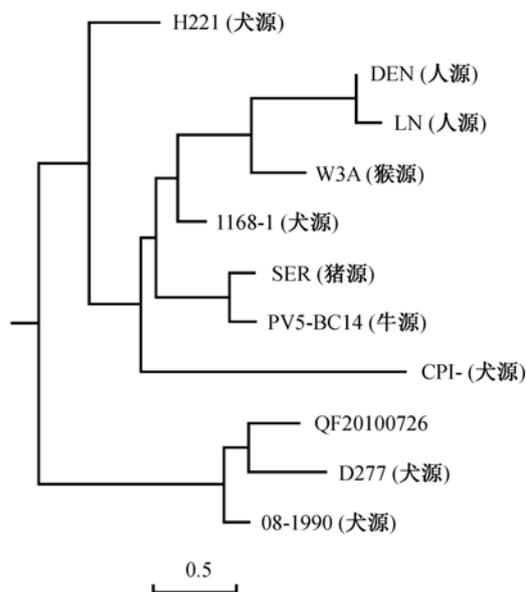


图 6 F 基因系统进化树

Fig. 6 The phylogenetic tree based on F gene

一个分支上(图 7)。

3 讨论

血清学调查表明,CPIV 在世界各国普遍存在^[9-11],是危害犬业重要传染病之一。该病毒广泛感染玩赏犬、实验犬、警犬和军犬。主要表现为发热、流涕和咳嗽,在军犬和警犬中可导致嗅觉障碍。

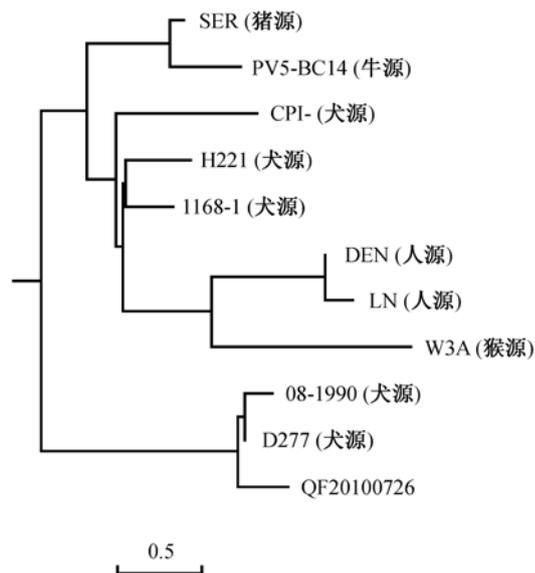


图 7 HN 基因系统进化分析

Fig. 7 The phylogenetic tree based on HN gene

另外 CPIV 也可引起急性脑脊髓炎和脑内积水, 临床表现为后驱麻痹和运动失调等症状, 严重危害犬类的健康生长。近年来, 随着养犬业的不断扩大, 犬副流感病毒感染越来越受到人们的重视。北京某动物医院诊治一例临床诊断为疑似 CPIV 感染京巴犬, 表现为精神萎靡、不喜食; 咳嗽、流涕、喘息等呼吸道症状, 伴有发烧, 治疗无效死亡。自然条件下犬单独感染 CPIV 的情况不为多见, 究其死亡原因, 可能与细菌、支原体和病毒等混合感染有关^[12]。为了分析 CPIV 变异情况, 本研究从此患犬肺脏组织中分离得到一株 CPIV, 命名为 QF20100706, 并对其部分基因序列进行分析, 研究基因变异情况。

该病毒在 4℃ 条件下能凝集豚鼠、猪、鸡和人“O”型红细胞, 这与 CPIV 血凝特性一致^[13]; 4℃ 或 25℃ 条件下能凝集鸡、猪、兔、犬、豚鼠、羊、人“O”型红细胞; 电镜观察期超微结构呈圆形、长丝状等不规则形态, 与金昌德报道的一致^[10]。

本研究从患犬组织中分离 CPIV, 并对 N、HN 和 F 基因进行扩增和测序, 分析其变异情况。核苷酸和氨基酸同源性和系统进化关系显示, 与 10 株有代表性的副流感病毒 N 基因相比, 核苷酸同源性和氨基酸同源性为 95.7% ~ 99.8%, 氨基酸同源性为 97.4% ~ 99.6%。其中有两处氨基酸发生新的变异, 分别是第 257 位由 V 变成了 A, 第 301 位由 A 变成了 T。其中与人源副流感病毒分离株 LN (登录号: JQ743324) 同源性最低为 97.4%, 与犬源副流感病毒分离株 08-1990 (登录号: KC237063) 同源性最

高为 99.6%。HN 基因分析显示, 与 10 株有代表性的副流感病毒 H 基因相比, 核苷酸同源性为 95.5 ~ 99.8%, 氨基酸同源性为 96.3 ~ 99.6%, 其中与人源副流感病毒分离株 LN (登录号: JQ743324) 同源性最低为 95.5%, 与犬源副流感病毒分离株 D277 (登录号: KC237065) 同源性最高为 99.6%。与 10 株有代表性的副流感病毒 F 基因相比, 该毒株 F 基因核苷酸同源性为 94.7% ~ 99.6%, 氨基酸同源性为 95.6% ~ 99.3%。有两处发生特异变异, 分别是 56 位由 T 变成了 S, 89 位由 T 变成了 M。其中与人源副流感病毒分离株 LN (登录号: JQ743324) 同源性最低为 95.6%, 与犬源副流感病毒分离株 08-1990 (登录号: KC237063) 同源性最高为 99.6%。F 基因的遗传变异对于 CPIV 的预防有着重要影响, 特别是重要抗原位点的变化可能导致疫苗的免疫保护不全面, 那么本分离株 F 基因的变异是否能导致疫苗的免疫保护不全或者增加 CPIV 毒力变化值得进一步研究。N、HN 和 F 基因序列分析还表明, 犬副流感病毒流行毒株之间、氨基酸序列之间变化不大, 但与其他相关毒株间差异相对较大, 这与李长磊等研究结果一致^[14]。

成功分离一株犬副流感病毒, 该病毒在 25℃ 条件能吸附豚鼠、鸡、猪和人 O 型血红细胞。电镜观察显示病毒为圆形、长丝状等形态多样, 大小不等的病毒粒子。N、HN 和 F 基因序列分析显示, 该分离株与犬副流感病毒分离株 08-1990 (登录号: KC237063) 亲缘关系最近; N 基因氨基酸在第 257 位 (由 V 变成了 A) 和第 301 位 (由 A 变成了 T), F 基因氨基酸在第 56 位 (由 T 变成了 S) 和 89 位 (由 T 变成了 M) 发生了特异性变异。

参考文献:

[1] Appel MJ. Virus Infections of Carnivores [M]. New York. Elsevier Science Publishing Co. Inc. 1987: 125 - 132.
 [2] Damian M, Morales E, Salas G, et al. Immunohistochemical detection of antigens of distemper, adenovirus and parainfluenza viruses in domestic dogs with pneumonia [J]. J Comp Pathol, 2005, 133(4): 289 - 293.
 [3] 金昌德, 李六金, 李秦, 等. 犬副流感病毒弱毒株的分离与鉴定 [J]. 第四军医大学学报, 2000, 21(6): 721 - 724.
 [4] Lamb R, Kolakofsky D. Paramyxoviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM. Fields Virology [M]. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 2001: 1305 - 1340.
 [5] Ueland K. Serological, bacteriological and clinical observations on an outbreak of canine infectious tracheobronchitis in Norway

- [J]. *Vet Rec*, 1990, 126: 481-483.
- [6] 白文彬, 于康震. 动物传染病诊断学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 106-110.
- [7] 姚火春. 兽医微生物学实验指导 (第 2 版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 105-107.
- [8] 殷震, 刘景华主编. 动物病毒学 (第二版) [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 750-751.
- [9] 闫喜军, 夏咸柱, 柴秀丽, 等. 犬副流感病毒血清抗体流行病学调查 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2001, (5): 75-76.
- [10] Englund L, Jacobs AA, Klingeborn B, et al. Seroepidemiological survey of *Bordetella bronchiseptica* and canine parainfluenza-2 virus in dogs in Sweden [J]. *Vet Rec*, 2003, 152(9): 251-254.
- [11] Ellis J, Anseeuw E, Gow S. et al. Seroepidemiology of respiratory (group 2) canine coronavirus, canine parainfluenza virus, and *Bordetella bronchiseptica* infections in urban dogs in a humane shelter and in rural dogs in small communities [J]. *Can Vet J*, 2011, 52(8): 861-868.
- [12] 刘腾飞. 犬副流感病毒的检测和 NP 基因的克隆、表达及其重组蛋白的免疫活性的研究 [D]. 乌鲁木齐, 新疆农业大学, 2010: 1-2.
- [13] 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所. 兽医微生物学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 414-415.
- [14] 李长磊, 赵福广, 于亚洲. 犬副流感病毒的分离鉴定及 F 基因的遗传分析 [J]. 经济动物学报, 2013, 17(2): 86-89.

[修回日期]2015-12-24

(上接第 76 页)

- [5] Thomas DL, Susan H F. Neurobiological basis of serotonin-dopamine antagonists in the treatment of Gilles de la Tourette syndrome [J]. *Progr Brain Res*, 2008, 172: 495-513.
- [6] 王梦雨, 郑毅, 崔永华. 抽动秽语综合征动物实验模型研究进展 [J]. 中国健康心理学杂志, 2014, 22(10): 1598-1600.
- [7] 车立纯. 抽动障碍动物模型研究进展 [J]. 中国儿童保健杂志, 2013, 21(6): 615-617.
- [8] Soler MC, Vilardosa U, Saldana RS, et al. Loss of neurofilaments in the neuromuscular junction in a rat model of proximal axonopathy [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2012, 38(1): 61-71.
- [9] 刘智胜. 小儿多发性抽动症 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 237-238.
- [10] 卫利, 王素梅, 陈自佳, 等. 化学因素诱发的多发性抽动症动物模型比较研究 [J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2010, 19(8): 683-686.
- [11] 董秋安, 刘晓伟. 恐惧应激大鼠行为学评估及比较 [J]. 黑龙江中医药, 2014, 43(1): 44-45.
- [12] 刘佳佳, 潘霄, 严进, 等. 大鼠恐惧应激模型的建立及指标筛选 [J]. 实用医药杂志, 2011, 28(5): 447-450.
- [13] 齐越, 魏小维. 多发性抽动症发病相关因素的研究进展 [J]. 中国儿童保健杂志, 2013, 21(6): 618-619.
- [14] 段玲玲, 张骠. 小儿多发性抽动症中枢神经生化介质研究进展 [J]. 江西中医药, 2008, 39(11): 78-80.
- [15] 董秋安, 刘晓伟, 许丽, 等. 惊恐应激对大鼠下丘脑单胺类递质的影响及中药干预 [J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(12): 1652-1653.
- [16] 谢忠礼, 李杰, 王兴华. 加味四逆散对慢性应激模型大鼠下丘脑单胺类神经递质的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(1): 50-52.
- [17] 王道涵, 王素梅, 卫利, 等. 健脾止动汤对多发性抽动症模型小鼠纹状体多巴胺及其受体含量的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(7): 452-455.
- [18] 杜淑娟, 彭贝如, 陈秀梅. 益智宁神口服液对抽动秽语综合征模型大鼠神经生物学和行为学的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2012, 24(7): 358-360.
- [19] 朱先康, 韩新民, 王敏华. 定抽颗粒治疗小儿多发性抽动症的临床及实验研究 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(2): 399-402.
- [20] 张如意, 张丽, 艾厚喜, 等. 金童颗粒治疗拟抽动秽语综合征模型大鼠的药理机制研究 [J]. 中国康复理论与实践, 2010, 16(10): 910-912.
- [21] Inglis FM, Moghaddam B. Dopaminergic innervation of the amygdala highly responsive to stress [J]. *Neurochem*, 1999, 72: 1088-1094.

[修回日期]2015-12-25