

# 腦內正腎上腺素對高血泌乳素之雄鼠 在低溫束縛環境下促成胃潰瘍減緩效 應有可能是重要的傳遞媒介物之一

徐志誠、施宏哲\*、杜小玲、蔡金秋、張振隆

利用腎被膜內額外植入同窩動物提供的腦下腺前葉以誘導成慢性血泌乳素過高 (Chronic hyperprolactinemia) 狀態之Wistar品系雄性大白鼠當作本實驗之動物模式，讓其曝露於低溫束縛壓 (Cold-restraint stress) 條件下，檢測動物腦內不同核區域之正腎上腺素 (Norepinephrine; NE) 含量之變化與胃潰瘍形成之關係乃為本研究之目的。實驗 I：移植前 (Day 0) 和移植後第40天 (Day 40) 由頸靜脈採血，利用放射免疫法測定血清中泌乳素 (Prolactin; PRL) 濃度，結果實驗組在移植後第40天與對照組相比較，血清泌乳素含量呈現顯著的增加 ( $P < 0.01$ )。實驗 II：移植後第40天之腦下腺前葉移植鼠和偽手術對照鼠，置於低溫 ( $5^{\circ}\text{C}$ ) 束縛壓力環境3小時後，結果發現實驗組之潰瘍指標與對照組比較統計上呈顯著差異 ( $P < 0.05$ )。實驗 III：移植後第40天之腦下腺前葉移植鼠和偽手術對照鼠，置於低溫 ( $5^{\circ}\text{C}$ ) 束縛壓力環境3小時，將動物迅速斷頭犧牲後；腦組織經由冷凍切片微量穿刺取樣 (Micropunch)，以高壓液相層析法 (HPLC) 並利用電化學偵測器 (EC) 定量腦內不同核區域之NE含量。結果實驗鼠與偽手術移植肌肉片之對照鼠，同在Cold-restraint stress條件下，腦內紋狀體 (Corpus striatum)、杏仁體 (Amygdaloid body) 和下視丘側核 (Lateral hypothalamus) 區域之NE含量則沒有改變；其中特別是有腦下腺前葉移植之實驗鼠，曝露於Cold-restraint stress條件下，其腦內前庭耳蝸神經核 (Nucleus accumbens; NAc) 區域之NE含量與偽手術對照鼠比較時 ( $93.0 \pm 13.0$  vs  $55.5 \pm 9.7$  ng/mg protein) 統計上呈顯著差異 ( $P < 0.05$ )，此現象顯示該神經元可能已被活化。再者，高血泌乳素狀態之雄鼠組在Cold-restraint stress誘導下產生潰瘍指標比對照組呈有意義的減低 ( $3.40 \pm 0.58$  mm vs  $6.92 \pm 1.34$  mm)。綜合上述結果得到以下推測，腎被膜接種有腦下腺前葉而有高血泌乳素之雄鼠，曝露於Cold-restraint stress條件下，減緩壓力誘發 (Stress-induced) 胃潰瘍發生之原因，可能與腦中NAc區域之NE神經元活性增加有關。

關鍵字：Hyperprolactinemia; Cold-restraint stress; Nucleus accumbens; Norepinephrine

中山醫學院生理學科、藥理學科\*

通信作者：徐志誠 中山醫學院生理學科

台中市建國北路一段10號，電話：(04)3896190-12342

No. 110, Sec.1, Chien Kuo N. Road, Taichung, Taiwan 402 ROC.

## 前 言

現代人隨工商業迅速發達日常生活的步調越來越變得緊湊，因之遭受各種不同的壓力乃在所難免。然而各種不同壓力若持續不斷加諸於人的身上，則會造成消化性潰瘍，此乃眾所週知之事。

從Drago等人<sup>(1)</sup>的早期研究報告得知泌乳素(Prolactin; PRL)是壓力(Stress)誘發成胃潰瘍過程中之一種保護因子。最近我們完成的一篇論文<sup>(2)</sup>再度證實了內因性高血泌乳素(Endogenous hyperprolactinemia)狀態之雄性大白鼠對低溫束縛壓力(Cold-restraint stress)所誘發成的胃潰瘍具有減緩的作用，至於PRL透過何種機制始能達成阻礙Stress誘發的胃黏膜之傷害，過去曾有許多報告<sup>(3,4)</sup>指出大腦內多巴胺(Dopamine; DA)神經元運作的機轉使得動物處於Cold-restraint stress時原可產生嚴重的胃潰瘍卻可免除胃黏膜之傷害，從這結果暗示動物處於Cold-restraint stress而仍能保護胃黏膜完整似乎需仰賴大腦內DA神經之運作當作媒介。

已知大腦內DA神經元所在地及其神經末梢分佈區域皆有定位<sup>(5)</sup>，前庭耳蝸神經核(Nucleus accumbens; NAc)是DA神經末梢終止區之一，先前我們的報告<sup>(2)</sup>亦證實了高血泌乳素可減輕Cold-restraint stress所誘發的胃潰瘍是透過NAc區域DA神經元之運作，這些皆說明了大腦內DA是參與胃功能調整之神經調整物。然而除了已有甚多報告支持大腦內DA參與Stress誘發胃潰瘍之抑制之調整外，尚有學者<sup>(6,7,8)</sup>提出大腦內另一種神經調節物-Norepinephrine(NE)，亦是與Stress所造成的胃潰瘍有關。如同DA神經元一樣，NE神經元在大腦內亦有起源處的細胞體及其終止區，特別是NAc區有NE受器<sup>(9)</sup>，再者NAc區有PRL合體位置<sup>(10)</sup>，基於以上發現本研究之目的再度利用高血泌乳素之雄鼠置於Cold-restraint stress條件下，測量大腦內有NE末梢終止之前庭耳蝸神經核、紋狀體、杏仁體和下視丘側核等區域，以探討大腦內何區域NE含量與Cold-restraint stress造成胃潰瘍之關聯性。

## 材料與方法

### 一、動物移植

本實驗所使用的動物是Wistar品系雄性大白鼠，其體重介於 $240 \pm 20$ g，這些大白鼠分成兩組：實驗組動物是指在其腎被膜接受同窩2隻雄鼠提供之腦下腺前葉移植(AP-graft)；對照組動物則是指在其腎被膜接受肌肉片移植(Sham-graft)。接受移植後之兩組大白鼠皆飼養於人工光照環境即14小時光照，10小時黑暗(照光時間為上午5時到下午7時)，室溫保持在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 範圍，採自由方式進食及飲水，直到進行下一步各項實驗為止。

### 二、前處理及血清泌乳素濃度測定(放射性免疫檢定法)

移植手術前(Day 0)及移植後第40天(Day 40)之兩組動物，各別在輕度乙醚麻醉下，經由頸靜脈抽血0.5 ml，抽取之全血隨即在室溫下靜置，待其自然凝固後，轉置於低溫( $15^\circ\text{C}$ )調控的離心機(ZK380, CHERMLE, GERMANY)經每分鐘3000轉離心30分鐘處理後，隨即分離出之血清並保存於 $-70^\circ\text{C}$ 冷凍櫃中，直到使用放射免疫檢定法(RIA)來定量泌乳素時才取出。將血清與0.1% Gelatine-PBS混合，再與第一抗體(Anti-Rat PRL-S-8)及放射性碘標載物的泌乳素在 $4^\circ\text{C}$ 共同培養48小時後，加入第二抗體(Sheep Anti-Rabbit-Gamma-Globulin, ARGG；由陽明大學生理研究所王錫崗教授提供)繼續培養48小時，再加入2 ml磷酸鹽緩衝液(PBS, pH 7.0)，經每分鐘2500轉離心30分鐘之處理後，取出樣本，捨棄上清液，利用自動伽瑪計數儀(PHARMACIA model 1277 Gamma-Master)檢測管內的放射性。最後經Log-Logit轉換，計算出泌乳素之濃度(ng/ml)。

### 三、胃潰瘍誘發法及潰瘍指標之計法

移植後飼養到第40天之腦下腺移植實驗鼠及偽手術對照鼠，經24小時禁食後，動物依仰臥姿勢將四肢固定於木板上，然後置入保持在 $5^\circ\text{C}$ 之低溫調控箱(Model 3920, Forma Scientific Inc., USA)中3小時後，隨即犧牲動物摘出全胃，以 $37^\circ\text{C}$ 生理食鹽水沖洗後，再浸入2% Formalin

溶液中2分鐘，然後用剪刀沿胃大彎切開並以生理食鹽水沖洗之，最後置於濾紙上以實體顯微鏡 (SMZ-1, Nikon, JAPAN) 進行潰瘍部位之檢測並記錄胃壁潰瘍之出血點數及潰瘍之總長度。

#### 四、移植大白鼠接受低溫束縛壓力後之全腦處理

腦下腺移植實驗鼠及偽手術對照鼠，在移植後之第40天，動物分別將其束縛並移入5°C之低溫調控箱中3小時，爾後予以斷頭犧牲並迅速地將全腦剝離出，旋即放入盛有-20°C下之Isopentane之容器內急速冷凍以固定腦組織，然後以鋁箔紙包裝並保存於-70°C之冷凍櫃中，待日後做為冷凍切片、腦組織微量取樣及測定腦中不同核之NE含量之用。

#### 五、冷凍切片及腦組織微量取樣

將冷凍保存之腦組織以包埋用膠 (Tissue-Tek, O.C.T Compound, Miles Laboratories Inc., ENGLAND) 固定於冷凍切片機 (FS/FAS Cryostat Bright, Britain) 上，於保持-12°C密閉箱內切成200  $\mu$ m之冠狀切片。採用Palkovits'氏之組織微量取樣法<sup>(11)</sup>配合大白鼠大腦圖譜，藉外管22G及內管28G組成之不銹鋼管進行腦組織微量取樣 (Micropunch)，刺孔取出前庭耳蝸神經核、紋狀體、杏仁體和下視丘側核之樣品，接著將刺孔取得之樣品分別置入500  $\mu$ l的微量離心管，加入0.1N之過氯酸 (Perchloric acid, Merk) 溶液35  $\mu$ l，使用超音波細胞打碎機 (375 Watt Model, Sonics & Material Inc., USA)，在50Watt條件下研磨20秒，然後在4°C溫控下，以每分鐘5000轉，離心10分鐘後取出30  $\mu$ l的上層澄清液，再利用高壓液相層析儀 (HPLC) 檢測腦核內NE含量。組織沉澱物溶於1.0 N NaOH，再採用Bradford<sup>(12)</sup>之蛋白質測定法，經由分光光度計 (Model U-2000UV-VIS Spectrophotometer, Hitach, JAPAN) 於595nm波長下測定吸光度，將標準量Bovine serum albumin依其濃度與吸光度的變化作一迴歸直線，求出蛋白質含量。

#### 六、高壓液相層析法 (HPLC)

自前庭耳蝸神經核、紋狀體、杏仁體和下視丘側核等部位萃取出分離出的上清液，應用逆相高效液相層析儀 (HPLC, PM-60, BAS, West Lafayette, Inc., USA) 測定各腦核內NE的

含量。操作過程是將上清液10  $\mu$ l注入HPLC系統，並利用電化學偵測器 (LC-4B, BAS, USA) 偵測。電化學偵測器的氧化還原電位設定為0.75V之條件下，流動溶液 (Mobile phase) 【配製比例如下：Heptane sulfonic acid 3.5 gm, Triethylamine 7.0ml, Orthophosphoric acid 8.0ml, Acetonitril 85.0ml, EDTA 0.2gm，溶於1900ml之蒸餾水中，調pH至3.0】以每分鐘0.8ml的流速灌注分離管，測量前庭耳蝸神經核、紋狀體、杏仁體和下視丘側核等部位之NE的濃度，最後係以每mg蛋白質中含有多少ng的NE含量來表示 (ng/mg protein)。

#### 六、統計方法

本研究之移植實驗組和對照組所測得之血清PRL濃度和大腦不同核之NE的含量，均以平均值加減標準誤差 (Mean  $\pm$  SE) 表示，兩組間之比較乃使用Student's t-test統計，P<0.05或P<0.01即為統計上呈顯著性差異。

## 結 果

#### 一、動物接受移植手術之前後，其血清中PRL之濃度值

接受腦下腺前葉移植之實驗組雄鼠，移植前從其頸靜脈採得血液並測得血清PRL濃度為17.1  $\pm$  2.9 ng/ml，與對照組之血清PRL濃度12.8  $\pm$  1.7 ng/ml (N=7) 相比較無顯著的差異。移植後第40天，實驗組血清中PRL上升的濃度為移植前對照組之十倍多 (203.3  $\pm$  38.6ng/ml)，在統計學上與對照組比較則呈顯著的差異 (P<0.05) (見圖一)，顯見移植腦下腺前葉後第40天之雄鼠，其體內PRL呈現過高的狀態。

#### 二、潰瘍指標

實驗組與對照組之動物分別置於5°C控溫箱內，為時三個鐘頭所造成胃黏膜損傷，由表一的結果顯示出實驗組與對照組之胃出血點數分別為12.5  $\pm$  1.13 (N=10) 和24.9  $\pm$  3.34 (N=10)，兩者在統計上呈現顯著的差異 (P<0.05)，潰瘍總長度則分別為3.40  $\pm$  0.58mm (N=10) 和6.92  $\pm$  1.34mm (N=10)，比較兩者在統計上亦呈顯著的差異 (P<0.01)。從實驗組較對照組之潰瘍指標為低的結果觀之，實驗組之潰瘍程度確有減輕

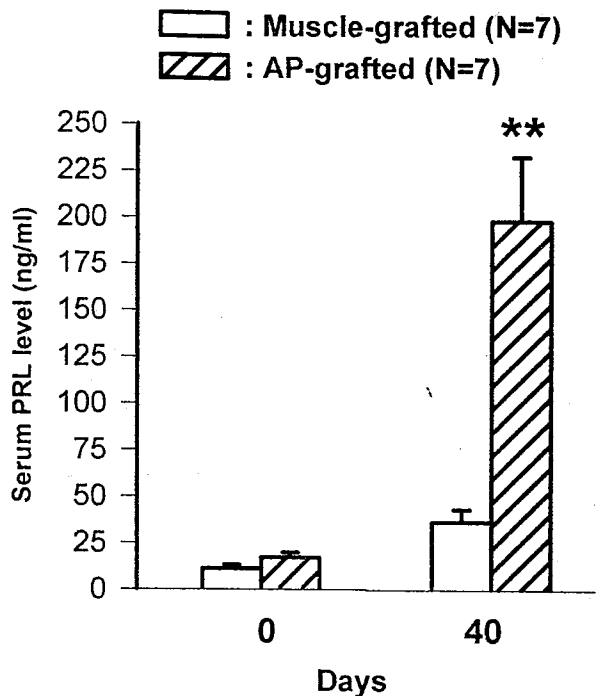


Fig 1. A comparison of serum PRL level in both muscle-grafted and AP-grafted rats on day 0 and 40th day after transplantation.

Data are presented as means  $\pm$  SEM. Numbers in parentheses represent animals used in each group. \*\*:  $P < 0.01$  when compared with the muscle-grafted rats.

Table 1. A comparison of index of gastric ulcer between sham-grafted and AP-grafted rats induced by cold-restraint stress

Group	No. of rat	No. of ulcer	Total ulcer length (mm)
Sham-graft	10	24.9 $\pm$ 3.34	6.92 $\pm$ 1.34
AP-graft	10	12.5 $\pm$ 1.13*	3.40 $\pm$ 0.58**

AP: Anterior pituitary

\*\* :  $P < 0.01$  when compared with the sham-grafted rats.

\* :  $P < 0.05$  when compared with the sham-grafted rats.

的現象。

三、腦下腺前葉移植鼠與肌肉片移植對照鼠在 Cold-restraint stress 條件下，腦內前庭耳蝸神經核、紋狀體、杏仁體和下視丘側核等區域內的 NE 含量之比較

由圖二中得知，不論移植實驗鼠或偽手術對照鼠在 Cold-restraint stress 條件下，紋狀體、

杏仁體和下視丘側核等三個區域內之 NE 含量均無明顯之變化。然而就腦內前庭耳蝸神經核區域所含的 NE 含量而言，比較腦下腺前葉移植鼠 (93.0  $\pm$  13.0 ng/mg protein) 與偽手術對照鼠 (55.5  $\pm$  9.7 ng/mg protein) 兩組，則發現有顯著的差異 ( $P < 0.05$ )。

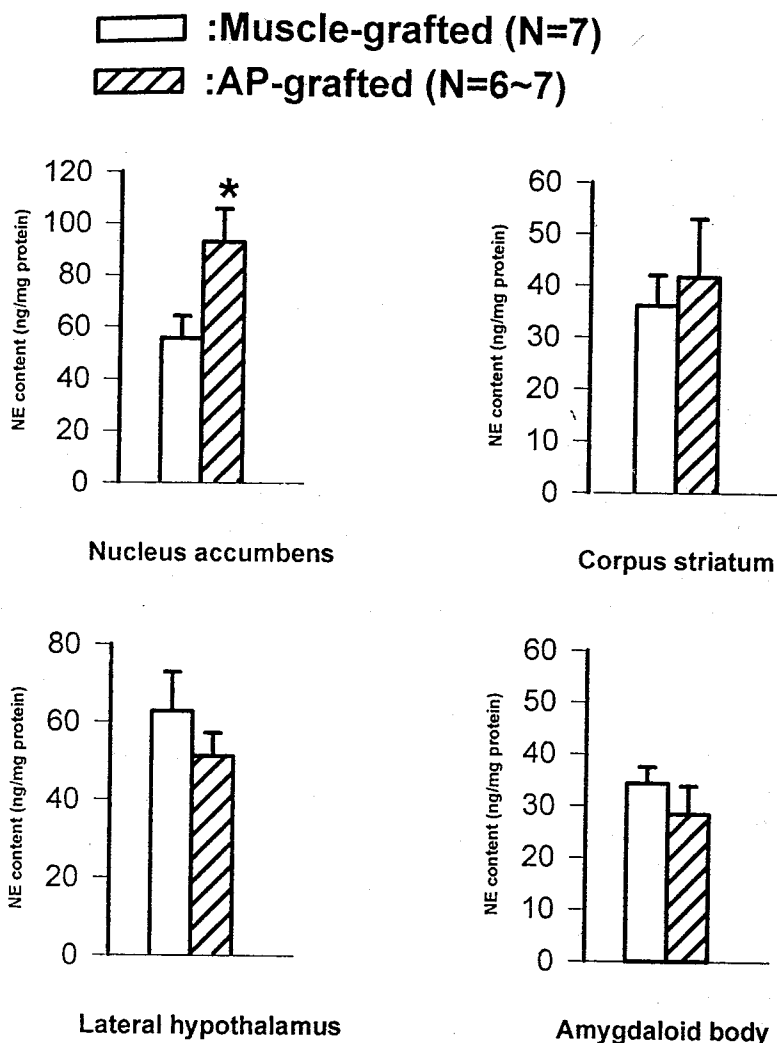


Fig 2. The concentrations of norepinephrine in the nucleus accumbens, corpus striatum, amygdaloid body and lateral hypothalamus of brain of both muscle-grafted and AP-grafted rats under cold-restraint stress.

Results are presented as means  $\pm$  SEM. Numbers in parentheses represent animals used in each group. \*:  $P < 0.05$  when compared with the muscle-grafted rats.

## 討 論

Stress與多種疾病有所關連，其中包括潰瘍(Ulcer)<sup>(13)</sup>。Stress誘導胃潰瘍產生之模式甚多，早在1976年Boyd等人<sup>(14)</sup>最先以Cold-restraint stress條件誘發大白鼠胃潰瘍產生做為動物實驗模式。儘管如此，但Cold-restraint stress引發胃潰瘍之機制迄今尚無定論。

由圖1顯示出雄鼠之腎被膜額外接受同窩二

隻雄鼠腦下腺前葉移植後第40天，體內呈現高泌乳素血狀態。又由表一得知腦下腺前葉移植組其潰瘍指標(潰瘍點數及總潰瘍長度)與對照組相比呈顯著差異( $P < 0.05$  &  $P < 0.01$ )，基於以上資料吾人推論血中高泌乳素濃度的狀態腦下腺前葉移植組大白鼠當其置於Cold-restraint stress環境中如同吾人先前的報告<sup>(2)</sup>及其他學者<sup>(15,16,17)</sup>的報告一樣，具有減緩胃潰瘍發生之效應。

Stress與大腦內單胺類(DA, NE and 5-HT)

活性之關聯性在早期已為多位學者<sup>(18,19,20)</sup>所報告。Glavin等人<sup>(3,4)</sup>曾經指出在Stress環境下大白鼠大腦內DA活性透過腦-胃腸路徑 (Brain-Gut axis) 對胃黏膜功能之維護乃扮演相當重要之角色。吾人先前的實驗<sup>(2)</sup>指出高血泌乳素之雄鼠，其大腦NAc區域DA神經活性增強會減輕Cold-restraint stress誘發的胃潰瘍程度。動物處於各種Stress環境下，維護胃黏膜完整之作用除了上述腦內DA神經活性介入之外，有不少報告指出腦內NE神經活性亦參與在內，諸如Bakke等人<sup>(6)</sup>、Gaton等人<sup>(7)</sup>、Glavin等人<sup>(8)</sup>和Glavin等人<sup>(21)</sup>利用不同Stress施加在動物身上，發現該動物大腦內NE神經活性對Stress誘發成的胃潰瘍具有對抗的作用。

從解剖學上已知大腦內有若干特殊區域散佈NE神經末梢，而終此該等區之神經路徑乃源自於中腦之藍斑核 (Nucleus locus ceruleus) 之NE神經細胞體，又有證據<sup>(5)</sup>指出在側腹被蓋區 (Lateral tegmental area) 亦含甚多之NE神經細胞體，其神經末梢被證實是投射至NAc區域<sup>(22)</sup>。有報告<sup>(23)</sup>指出高血泌乳素會影響腦內NE神經活性，本研究利用高血泌乳素狀態之大白鼠，選擇其腦內有NE神經路徑分佈的特定若干區域如紋狀體、杏仁核、下視丘外側核及前庭耳蝸神經核等區，於該動物處於Cold-restraint stress條件下，測定其各核NE含量，由圖二中可發現，有高血泌乳素之腦下腺前葉移植組暴露於Cold-restraint stress環境下，大腦內唯有NAc區域的NE含量呈顯著而有意義的增加，其它三區域NE含量與對照組比較並沒有差異。有學者<sup>(9)</sup>指出NAc部位NE神經活性與胃黏膜功能之調節有密切的關係，又本實驗表一的結果指出高血泌乳素之腦下腺前葉移植組在Cold-restraint stress環境下造成的胃潰瘍在統計上呈現有意義的減輕，綜合以上結果吾人得到一個結論；內因性血泌乳素過高狀態之動物，對Cold-restraint stress所造成胃潰瘍具有減緩的作用，而這種效應可能透過腦內NAc區域Noradrenergic neuronal activity之媒介作用。

感謝陽明醫學院生理所王錫崗教授在應用放射免疫檢定法測定血中泌乳素技術上之指導，在此謹致以最大的謝意。本論文接受中山醫學院專題計劃 (CSMC 82-B020) 經費資助。

## 參考文獻

1. Drago F, Agata VD, Spadaro F, Grassi M, Valerio C: Prolactin as a protective factor in stress-induced gastric ulcers. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1990; 597: 248-251.
2. Shyu JC, Chu CY, Duh SL et al: Nucleus Accumbens dopaminergic mediation of protection against gastric mucosal ulcerations by cold-restraint stress in the male hyperprolactinemic rats. *Chinese J. Physiol.* 1997; 40: 1-7.
3. Glavin GB, Dugani AM: Effect of dopamine agonists and antagonists on gastric acid secretion and stress responses in rats. *Life Sci.* 1987; 41: 1397-1408.
4. Glavin GB, Szabo S: Dopamine in gastrointestinal disease. *Dig. Dis. Sci.* 1990; 35: 1153-1161.
5. Fuxe K, Hokfelt T, Ungerstedt U: Morphological and functional aspects of central monoamine neurones. *Int. Rev. Neurobiol.* 1970; 13: 93-126.
6. Bakke HK, Murison R, Walther B: Effect of central noradrenaline depletion on corticosterone levels and gastric ulcerations in rats. *Brain Res.* 1986; 368: 256-261.
7. Gatton J, Fernandez de la Gandara F, Velasco A: The role of the neurotransmitters acetylcholine and noradrenaline in the pathogenesis of stress ulcer. *Comparative Biochemistry & Physiology-C: Comparative Pharmacol. Toxicol.* 1993; 106: 125-129.
8. Glavin GB: Selective noradrenaline depletion markedly alter stress responses in rats. *Life Sci.* 1985; 37: 461-465.
9. Xing LP, Washington J, Seaton J, et al:

- Monoamine oxidase B inhibition reduces gastric mucosal blood flow, basal acid secretion, and cold water restraint-induced gastric mucosal injury in rats. *Dig. Dis. sci.* 1990; 35: 61-65.
10. Muccioli G, Ghe C, Carlo R Di: Distribution and characterization of prolactin binding site in the male and female rat brain: effects of hypophysectomy and ovariectomy. *Neuroendocrinology* 1991; 53: 47-53.
  11. Palkovits M, Brownstein MJ: Maps and guide to microdissection of the rat brain. 1988 by Elsevier Science publishing Co., Inc.
  12. Bradford MM: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976; 72: 248-254.
  13. Natelson B: Stress, predisposition and the onset of serious disease: Implication about psychosomatic etiology. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1983; 7: 511-527.
  14. Boyd SC, Caul WF, Bowen BK: Use of cold-restraint to examine psychological factor in gastric ulceration. *Physiol. Behav.* 1977; 18: 865-870.
  15. Kodama Y, Kumashiro R, Gain T, Matsumoto T: The preventative effect of the antifibrinolytic agents, epsilon-aminocaproic acid and tranexamic acid, on stress ulcer formation in rats. *Int. Surg.* 1983; 68: 361-363.
  16. Hernandez DE, Walker CH, Mason GA: Influence of thyroid states on stress gastric ulcer formation. *Life Sci.* 1988; 42: 1757-1764.
  17. Garrick T, Goto Y, Buack S, et al: Cimetidine and ranitidine protect against cold restraint-induced ulceration in the by suppressing gastric acid secretion. *Dig. Dis. Sci.* 1987; 32: 1261-1267.
  18. Bliss E, Ailion J, Zwanziger J: Metabolism of norepinephrine, serotonin and dopamine in rat brain with stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1968; 164: 122-134.
  19. Corrodi H, Fuxe K, Hokfelt T: The effect of immobilization stress on the activity of central monoamine neurons. *Life Sci.* 1968; 7: 107-112.
  20. Thierry A, Javoy F, Glowinski J, et al: Effect of stress on the metabolism of norepinephrine, dopamine and serotonin in the central nervous system of the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1968; 163: 163-171.
  21. Glavin GB, Dugani AM, Pinsky C: L-doprenyl attenuates stress ulcer formation in rats. *Neurosci. Lett.* 1986; 70: 379-381.
  22. Fuxe K, Agnati LF, Kalia M, et al: Dopaminergic system in the brain and pituitary. In: *The dopaminergic system in basic and clinical aspects of neuroscience*, edited by E. Flückiger, E.E. Müller, and M.O. Thoner. Berlin: Springer-Verlag, 1985, p. 11-18.
  23. Simpkins JW, Gabriel SM: Chronic hyperprolactinemia causes progressive changes in hypothalamic dopaminergic and noradrenergic neurons. *Brain Res.* 1984; 309: 277-282.

# Brain Norepinephrine may be Important One of Mediation of Protection Against Gastric Mucosal Ulceration by Cold-Restraint Stress in Male Hyperprolactinemic Rats

Jyh-Cherng Shyu, Hung-Che Shih\*, Sheau-Ling Duh, Chin-Chiu Tsai and Chen-Lung Chang

The relationship between brain norepinephrine (NE) and development of gastric ulcer induced by Cold-restraint was investigated in male hyperprolactinemic rats. Male Wistar strain rats were divided into two groups: one received extra two pieces of anterior pituitary (AP) from their littermates, the other grafted with several pieces of muscle served as control. Experiment I: On the 40th day after transplantation, the level of serum prolactin (PRL) in the AP-grafted group was higher than those of control ( $P < 0.01$ ). Experiment II: On the 40th day after transplantation, AP-grafted and control rats were restrained and placed supine in a ventilated refrigerator with an ambient temperature of  $5^{\circ}\text{C}$  for 3hrs. Although gastric mucosal ulceration was observed in both groups, the ulcer index (including total number and length of gastric mucosal ulceration) was lower in AP-grafted group than that in control group ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively). Experiment III: On 40th day after transplantation, all rats was allowed to

expose to cold-restraint stress ( $5^{\circ}\text{C}$ , 3hrs). After the end of stress, all animal were immediately sacrificed by decapitation, the brain was dissected with Palkovit's micropunch technique. NE content in the different area of brain such as corpus striatum, amygdaloid body, lateral hypothalamus and nucleus accumbens (NAc) were assayed by HPLC with electro chemical detection. The results showed that concentrations of NE in the corpus striatum, amygdaloid body and lateral hypothalamus area of brain were not statistically different between AP-grafted and control rats. However, the AP-grafted rats exhibited significantly higher NE content in the NAc area when compared with control rats ( $93.0 \pm 13.0$  versus  $55.5 \pm 9.7$  ng/mg protein,  $P < 0.05$ ). According to these findings, we suggest that protective effect of chronic high serum PRL on gastric mucosal ulceration induced by cold-restraint is probably mediated via an increase of norepinephrinergic neuron activity of NAc area.

Key Words: hyperprolactinemia, gastric ulcers, nucleus accumbens, norepinephrine