

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.10.019

论著·实验研究

宫内生长受限大鼠胃黏膜 nesfatin-1/NUCB2 和 ghrelin 的表达及其意义

程亚颖¹ 吕红艳² 王鑫¹ 宋光耀³

(1. 河北省人民医院儿科, 河北 石家庄 050051;
2. 河北省邯郸市妇幼保健院新生儿科, 河北 邯郸 056001;
3. 河北省人民医院内分泌科, 河北 石家庄 050051)

[摘要] **目的** 探讨 nesfatin-1、ghrelin 在宫内生长受限 (IUGR) 大鼠胃黏膜的表达及其意义。**方法** 采用母鼠妊娠期低蛋白饮食法,使其自然分娩建立 IUGR 新生大鼠模型。根据有无追赶生长分为追赶生长组 (RC 组)、无追赶生长组 (RR 组)、对照组 (CC 组)。应用实时荧光定量 PCR 技术及 Western blot 法测定不同日龄 (12 d、21 d、28 d) 及追赶生长情况的 SD 大鼠胃黏膜的 nesfatin-1/NUCB2、ghrelin mRNA 及蛋白的表达。**结果** 大鼠出生后胃黏膜即有 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 及蛋白的表达。随日龄增长,3 组仔鼠胃 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 及蛋白的表达均明显升高,断奶前 (12 d、21 d), RC 组均高于 CC 组 (均 $P < 0.05$), 而断奶后 (28 d) RC 组与 CC 组无差异; RR 组始终低于 RC 组 (均 $P < 0.05$)。生后 12 d 开始 RC 组 ghrelin mRNA 及蛋白高于 CC 组,断奶后两组无差异; RR 组于生后 12 d 开始始终低于 RC 组及 CC 组。**结论** Nesfatin-1 与 ghrelin 共同表达于 IUGR 大鼠胃黏膜,参与长期的营养调控。
[中国当代儿科杂志, 2014, 16 (10): 1051-1056]

[关键词] 宫内生长受限; Nesfatin-1/NUCB2; Ghrelin; 追赶生长; 大鼠

Expression of nesfatin-1/NUCB2 and ghrelin in gastric mucosa of rats with intrauterine growth retardation

CHENG Ya-Ying, LV Hong-Yan, WANG Xin, SONG Guang-Yao. Department of Pediatrics, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China (Song G-Y, Email: sguangyao2@163.com)

Abstract: Objective To investigate the expression of nesfatin-1/NUCB2 and ghrelin in the gastric mucosa of rats with intrauterine growth retardation (IUGR) and its significance. **Methods** The IUGR animal model was established by feeding rats low-protein diets during their pregnancy. Newborn rats were divided into catch-up growth, non-catch-up growth and control groups. Protein and mRNA levels of nesfatin-1/NUCB2 and ghrelin in the gastric mucosa of rats were determined by RT-PCR and Western blot, respectively. **Results** Nesfatin-1/NUCB2 mRNA and protein were expressed in the gastric mucosa of rats immediately after birth, and their expression increased in an age-dependent manner in all three groups. Furthermore, the level of nesfatin-1/NUCB2 in the catch-up growth group was higher than that in the control group before weaning, whereas there was no significant difference in nesfatin-1/NUCB2 expression between the two groups after weaning. The level of nesfatin-1/NUCB2 in the non-catch-up growth group was lower than that in the catch-up growth group during the whole observation period. The level of ghrelin in the catch-up growth group was higher than that in the control group starting from day 12 after birth, whereas there was no significant difference in ghrelin expression between the two groups after weaning. The level of ghrelin in the non-catch-up growth group was lower compared with those in the catch-up growth and control groups from days 12 to 28 after birth. **Conclusions** Nesfatin-1 and ghrelin are co-expressed in the gastric mucosa of rats with IUGR after birth and interact with each other to produce long-term nutritional regulation.
[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(10): 1051-1056]

Key words: Intrauterine growth retardation; Nesfatin-1/NUCB2; Ghrelin; Catch-up growth; Rats

[收稿日期] 2014-03-05; [接受日期] 2014-05-15
[基金项目] 河北省自然科学基金 (H2014307057)。
[作者简介] 程亚颖, 女, 博士, 副主任医师。
[通信作者] 宋光耀, 男, 教授, 主任医师。

宫内生长受限 (intrauterine growth retardation, IUGR) 易发生营养程序化, 影响生后能量代谢及体格生长^[1]。部分由下丘脑神经元所分泌的神经肽如神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY), 阿片促黑色素原 (proopiomelanocortin, POMC) 等在摄食和能量平衡的调节中发挥着十分重要的作用。Nesfatin-1 是由核组蛋白 2 (nucleobindin2, NUCB2) 编码的脑肠肽, 与 ghrelin 均是近年来在大鼠中枢及外周发现的脑肠肽, 具有调节摄食及能量代谢等神经内分泌作用^[2-3]。本课题组既往研究发现, 在 IUGR 新生儿生后早期血浆 nesfatin-1 与 ghrelin 水平均较高, 且与能量代谢及追赶生长有关^[4-5]。国外学者研究发现 SD 大鼠生后第 1 天血清 nesfatin-1/NUCB2 水平低于成年大鼠, 随日龄增长于生后 13 d、20 d、27 d 逐渐增高^[6]。但它们在 IUGR 患儿中枢及外周组织的作用以及两者之间的关系目前在国内外未见报道。

本研究应用实时荧光定量 PCR (real time-PCR) 技术及 Western-blot 法测定 IUGR 的 SD 大鼠在生后不同日龄及追赶生长情况下胃黏膜的 nesfatin-1/NUCB2、ghrelin mRNA 及蛋白的表达, 探讨不同生长情况下 IUGR 大鼠外周组织 nesfatin-1/NUCB2、ghrelin 的表达变化及其与生长的关系。

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立

根据文献报道^[7], 采用母鼠妊娠期低蛋白饮食法, 使其自然分娩建立 IUGR 新生大鼠模型。选取 2 月龄清洁级的未曾交配的成年雌性 SD 大鼠 24 只与雄性 SD 大鼠 12 只 (购于河北医科大学实验动物中心), 体重 200~250 g。适应性喂养 1 周后, 随机选择雌雄大鼠按 2:1 比例合笼, 次日母鼠阴道涂片找到精子为受孕第 1 天。限食母鼠 (怀孕期间限制蛋白进食, 饲料中蛋白含量占 8%) 所生新生鼠出生体重和 (或) 身长小于正常对照组新生鼠 2 个标准差者纳入实验组 (IUGR 组, R 组); 同时设自由进食的母鼠 (任意摄取标准鼠食, 蛋白含量为 20%) 自然分娩后的新生鼠为对照组 (C 组)。为防止胎数不均对仔鼠出生体重及生后摄

食等的影响, 凡妊娠成活胎仔鼠数不足 5 只或超过 10 只者, 均弃去。

所有仔鼠出生后均由原母鼠母乳喂养, C 组仔鼠的母鼠分娩后仍自由进食, 仔鼠作为对照组 (CC 组, 40 只); R 组仔鼠分为 2 组: 1 组为母鼠分娩后改为自由进食 (RC 组, 追赶生长组, 40 只), 1 组母鼠分娩后继续限食 (RR 组, 无追赶生长组, 40 只), 每周测体重、身长 (鼻肛长)。所有仔鼠 21 d 断乳, 给予常规饲料自由进食至生后 28 d。

1.2 标本留取

RR 组、RC 组及 CC 组仔鼠分别于生后 0 d、12 d、21 d、28 d (各 10 只) 禁食 12 h, 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 麻醉成功后开腹, 腹主动脉取血并处死, 于无菌冰块上迅速分离出胃, 沿胃大弯剪开, 剪取胃体部组织 30~50 mg, 立即剪碎, 无菌密封, 置于液氮罐中速冻, 后移至 -70℃ 深冻冰箱保存。

1.3 提取 RNA 及实时荧光定量 RT-PCR 法测 nesfatin-1/NUCB2、ghrelin mRNA 的表达

在无 RNA 酶的环境下制备组织匀浆, 并加入变性液经酸酚-氯仿将 RNA 抽提至水相, 与 DNA 和蛋白质分离, 经异丙醇沉淀回收总 RNA, 经 RNA 的纯度及完整性检测, 表明提取的 RNA 蛋白污染很少, 进行反转录 (试剂盒: Promega, USA)。PCR 扩增, GAPDH 为内参基因, 扩增片段长度 120 bp, 上游引物: 5'-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3', 下游引物: 5'-GCTTCACCACCTTCTTGATGTC-3'; Ghrelin 扩增片段长度 136 bp, 上游引物: 5'-GCCCAGCAGAGAAAGGAAT-3', 下游引物: 5'-AGGGAGCATTGAACCTGATT-3'; Nesfatin-1 扩增片段长度 116 bp, 上游引物: 5'-CCAGACACGGGACTTTATTATG-3', 下游引物: 5'-CCGCTCCTTATCTCCTCTATG-3'。扩增完毕后, 进入 ABI 7300 型荧光定量 PCR 仪自带的 SDS v1.3 软件的结果分析界面, 设置 GAPDH 为内参照基因, 设置基线为 3~15 个循环, 得到各样本、各基因扩增的 Ct 值。设置 B4 样品为标准 1, 按照 $RQ=2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式得到各目的基因在各样本中表达水平的相对定量值 (RQ 值), 将 RQ 值用于统计分析。

1.4 Western blot 法 测定 nesfatin-1/NUCB2、ghrelin 蛋白表达

将胃组织剪碎后置于匀浆套管中，按照每 100 mg 组织 1 mL 的量加入 RIPA 裂解液（150 mmol/L NaCl, 50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.8, 0.1% NP-40, 0.5% 脱氧胆酸钠, 0.1% SDS, 0.1% EDTA）进行匀浆。然后冰浴反应 30 min；离心取上清（即蛋白提取液），加入 PMSF 调至终浓度为 1%，-20℃ 保存。取 1 cm 光径比色杯，根据考马斯亮蓝试剂盒说明书，用分光光度计于 595 nm 处测定样品 OD 值，按照以下公式计算出样品的浓度（g/L）：样品浓度 = (样品 OD 值 - 空白 OD 值) / (标准 OD 值 - 空白 OD 值) × 标准品浓度 × 样品稀释倍数。在制作的电泳胶板加样孔中加样，每孔中加入含 50 μg 蛋白的蛋白样品电泳加样液进行 SDS-PAGE 电泳。转膜、封闭后加小鼠抗大鼠一抗，4℃ 过夜。TTBS 振荡冲洗 3 遍，加入用 TTBS 1:3000 稀释的兔抗小鼠二抗，4℃ 孵育 1 h。用 TTBS 室温洗膜 3 次，TBS（10 mmol/L

Tris-HCl, pH 8.0, 150 mmol/L NaCl）洗膜 1 次。抗体结合区带用化学发光法检测。将 DAB 显色的 PVDF 膜在凝胶成像仪上照像，Quantity One 软件分析。结果用样品与 GAPDH 的 IOD 比值表示。

1.5 统计学分析

采用 SAS 8.0 统计分析软件包对数据进行分析。所有计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用方差分析，组间两两比较采用 SNK-*q* 检验，*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组仔鼠生后体重、身长增长比较

出生当天，R 组仔鼠体重及身长明显低于 C 组，RC 组于生后 12 d 内显示出明显的追赶生长，体重与身长在生后 12 d、21 d 及 28 d 与 CC 组比较差异均无统计学意义。RR 组于生后 12 d、21 d 及 28 d 体重与身长始终低于 RC 组及 CC 组（均 *P* < 0.05）。见表 1。

表 1 各组不同日龄仔鼠体重与身长比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	体重 (g)				身长 (cm)			
		0 d	12 d	21 d	28 d	0 d	12 d	21 d	28 d
CC	10	6.8 ± 0.8	24.2 ± 2.9	47.6 ± 4.8	58.7 ± 7.2	5.16 ± 0.27	7.11 ± 0.75	10.62 ± 0.43	13.43 ± 2.08
RC	10	5.7 ± 0.6 ^a	23.0 ± 3.7	48.1 ± 6.5	59.7 ± 5.7	4.80 ± 0.31 ^a	7.19 ± 0.69	10.41 ± 0.66	13.11 ± 1.76
RR	10	5.4 ± 0.4 ^a	11.9 ± 1.3 ^{ab}	28.6 ± 2.4 ^{ab}	34.6 ± 4.9 ^{ab}	4.65 ± 0.29 ^a	6.1 ± 0.33 ^{ab}	8.66 ± 0.29 ^{ab}	10.88 ± 1.34 ^{ab}
<i>F</i> 值		14.41	58.23	52.11	56.18	8.14	9.65	49.31	6.28
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注：a 示与同日龄 CC 组比较，*P* < 0.05；b 示与同日龄 RC 组比较，*P* < 0.05。

2.2 各组仔鼠胃 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 及蛋白的表达比较

大鼠出生后胃黏膜即有 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 及蛋白的表达。随日龄增长，3 组仔鼠胃 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 及蛋白的表达均明显升

高，至生后 28 d，是出生时的数十倍甚至上百倍（均 *P* < 0.01）。断奶前，RC 组均高于 CC 组（均 *P* < 0.01），而断奶后 RC 组与 CC 组无差异。RR 组在生后各时间点始终低于 RC 组（均 *P* < 0.01）。见表 2~3 和图 1~2。

表 2 各组不同日龄仔鼠胃黏膜 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	0 d	12 d	21 d	28 d	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
CC	10	0.58 ± 0.20	13.13 ± 1.46 ^c	38.57 ± 7.15 ^{c,d}	135.88 ± 11.04 ^{c,d,e}	858.01	<0.01
RC	10	3.12 ± 0.65 ^a	27.38 ± 4.38 ^{a,c}	64.73 ± 6.52 ^{a,c,d}	129.56 ± 7.30 ^{c,d,e}	1051.64	<0.01
RR	10	3.12 ± 0.65 ^a	0.78 ± 0.10 ^{ab}	34.82 ± 12.56 ^{b,c,d}	61.46 ± 11.85 ^{a,b,c,d,e}	111.23	<0.01
<i>F</i> 值		72.84	249.18	31.70	161.86		
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

注：a 示与同日龄 CC 组比较，*P* < 0.01；b 示与同日龄 RC 组比较，*P* < 0.01；c 示与同组 0 d 比较，*P* < 0.01；d 示与同组 12 d 比较，*P* < 0.01；e 示与同组 21 d 比较，*P* < 0.01。

表 3 各组不同日龄仔鼠胃黏膜 nesfantin-1/NUCB2 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	0 d	12 d	21 d	28 d	F 值	P 值
CC	10	1.54 ± 0.21	3.41 ± 0.23 ^c	6.61 ± 0.43 ^{c,d}	13.41 ± 1.95 ^{c,d,e}	266.53	<0.01
RC	10	2.12 ± 0.36 ^a	4.67 ± 0.38 ^{a,c}	11.73 ± 1.11 ^{a,c,d}	13.41 ± 1.91 ^{c,d,e}	229.83	<0.01
RR	10	2.12 ± 0.36 ^a	1.26 ± 0.19 ^{a,b,c}	6.65 ± 0.27 ^{b,c,d}	11.40 ± 0.42 ^{a,b,c,d,e}	2102.92	<0.01
F 值		11.00	384.07	174.28	5.28		
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	0.01		

注: a 示与同日龄 CC 组比较, $P < 0.01$; b 示与同日龄 RC 组比较, $P < 0.01$; c 示与同组 0 d 比较, $P < 0.01$; d 示与同组 12 d 比较, $P < 0.01$; e 示与同组 21 d 比较, $P < 0.01$ 。

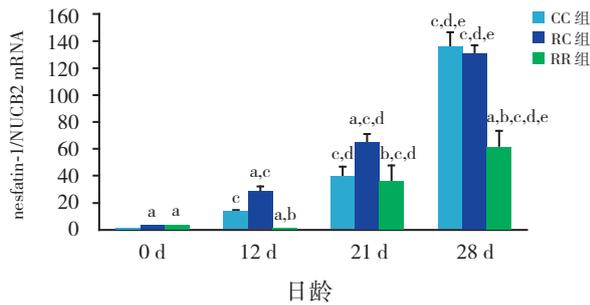


图 1 各组不同日龄仔鼠胃黏膜 nesfantin-1/NUCB2 mRNA 表达 ($n=10$) a 示与同日龄 CC 组比较, $P < 0.01$; b 示与同日龄 RC 组比较, $P < 0.01$; c 示与同组 0 d 比较, $P < 0.01$; d 示与同组 12 d 比较, $P < 0.01$; e 示与同组 21 d 比较, $P < 0.01$ 。

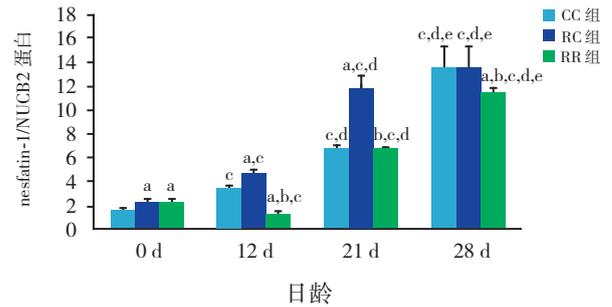


图 2 各组不同日龄仔鼠胃黏膜 nesfantin-1/NUCB2 蛋白表达 ($n=10$) a 示与同日龄 CC 组比较, $P < 0.01$; b 示与同日龄 RC 组比较, $P < 0.01$; c 示与同组 0 d 比较, $P < 0.01$; d 示与同组 12 d 比较, $P < 0.01$; e 示与同组 21 d 比较, $P < 0.01$ 。

2.3 各组仔鼠胃 ghrelin mRNA 及蛋白表达比较

生后当天 ghrelin mRNA 及蛋白在 3 组仔鼠胃黏膜表达无差异, 但生后 12 d 开始 RC 组高

于 CC 组 (均 $P < 0.01$), 断奶后两组无差异。RR 组于生后 12 d 开始始终低于 RC 组及 CC 组 (均 $P < 0.01$)。见表 4~5 和图 3~4。

表 4 各组不同日龄仔鼠胃黏膜 ghrelin mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	0 d	12 d	21 d	28 d	F 值	P 值
CC	10	0.96 ± 0.25	6.56 ± 0.74 ^c	56.00 ± 13.51 ^{c,d}	97.19 ± 27.10 ^{c,d,e}	89.64	<0.01
RC	10	0.93 ± 0.26	41.61 ± 4.00 ^{a,c}	113.34 ± 24.92 ^{a,c,d}	91.89 ± 35.21 ^{c,d}	54.52	<0.01
RR	10	0.93 ± 0.26	2.67 ± 1.08 ^{a,b,c}	9.98 ± 1.41 ^{a,b,c,d}	43.99 ± 8.51 ^{a,b,c,d,e}	214.01	<0.01
F 值		0.03	781.34	99.90	12.59		
P 值		0.97	<0.01	<0.01	<0.01		

注: a 示与同日龄 CC 组比较, $P < 0.01$; b 示与同日龄 RC 组比较, $P < 0.01$; c 示与同组 0 d 比较, $P < 0.01$; d 示与同组 12 d 比较, $P < 0.01$; e 示与同组 21 d 比较, $P < 0.01$ 。

表 5 各组不同日龄仔鼠胃黏膜 ghrelin 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	0 d	12 d	21 d	28 d	F 值	P 值
CC	10	0.52 ± 0.19	1.41 ± 0.29 ^c	3.91 ± 0.94 ^{c,d}	13.60 ± 3.23 ^{c,d,e}	125.94	<0.01
RC	10	0.50 ± 0.20	1.90 ± 0.73 ^{a,c}	5.60 ± 1.33 ^{a,c,d}	12.11 ± 2.60 ^{c,d,e}	118.32	<0.01
RR	10	0.50 ± 0.20	0.79 ± 0.31 ^{a,b,c}	2.78 ± 0.68 ^{a,b,c,d}	3.48 ± 0.61 ^{a,b,c,d}	88.77	<0.01
F 值		0.03	13.21	19.46	51.04		
P 值		0.98	<0.01	<0.01	<0.01		

注: a 示与同日龄 CC 组比较, $P < 0.01$; b 示与同日龄 RC 组比较, $P < 0.01$; c 示与同组 0 d 比较, $P < 0.01$; d 示与同组 12 d 比较, $P < 0.01$; e 示与同组 21 d 比较, $P < 0.01$ 。

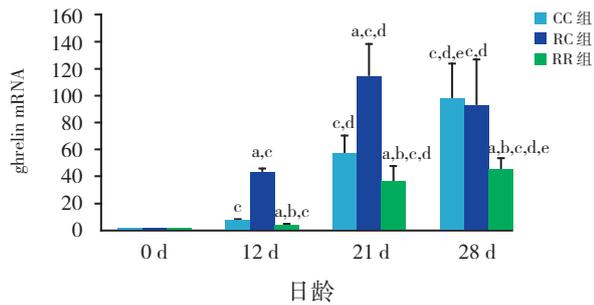


图3 各组仔鼠不同日龄胃黏膜 ghrelin mRNA 表达 (n=10) a 示与同日龄 CC 组比较, P<0.01; b 示与同日龄 RC 组比较, P<0.01; c 示与同组 0 d 比较, P<0.01; d 示与同组 12 d 比较, P<0.01; e 示与同组 21 d 比较, P<0.01。

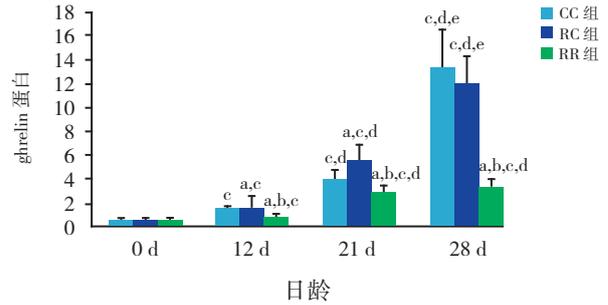


图4 各组仔鼠不同日龄胃黏膜 ghrelin 蛋白表达 (n=10) a 示与同日龄 CC 组比较, P<0.01; b 示与同日龄 RC 组比较, P<0.01; c 示与同组 0 d 比较, P<0.01; d 示与同组 12 d 比较, P<0.01; e 示与同组 21 d 比较, P<0.01。

3 讨论

研究表明, 无论中枢还是外周注射 nesfatin-1 均有很明显的抑制摄食的作用^[8-9]。而脑室内注射 nesfatin-1 抗体可刺激摄食^[2]。禁食后胃内 NUCB2 mRNA 表达下降, 同时血浆 nesfatin-1/NUCB2 水平下降, 再投喂后可恢复^[10]。因此证实 nesfatin-1 作为抑制摄食的调节肽在下丘脑和外周均发挥重要作用。

Nesfatin-1 免疫阳性细胞主要分布在胃的下 1/2 到 1/3 处, 此处的内分泌细胞最多, 包括分泌 ghrelin 的 X/A 样细胞^[11-12]。本研究检测胃黏膜内 nesfatin-1 与 ghrelin 的 mRNA 及蛋白的表达, 发现大鼠出生后胃黏膜即有 nesfatin-1 mRNA 及蛋白的表达, 且随日龄增长而增加, 与国外学者研究一致^[6,13]。断奶前, RC 组胃黏膜 nesfatin-1 的表达高于 CC 组, 而断奶后 RC 组与 CC 组表达无差异。RR 组始终低于 RC 组, 提示 nesfatin-1 在 3 组之间的差异与追赶生长关系密切。nesfatin-1 在 RC 组胃内的高表达可能是对 RC 组食欲良好、体重增加的一种适应性反应。RC 组体重增长较快, 升高的 nesfatin-1 可能有利于防止其食欲过盛及体重过度增长而导致肥胖。相反, RR 组胃内 nesfatin-1 的低表达可能有利于其提高食欲及体重增加。

既往研究显示, 高脂喂养的肥胖小鼠 ghrelin 在胃肠道表达下调, 血浆 ghrelin 水平降低, 而进食后血浆中水平升高^[14-15]。杨慧明等^[16]研究认为 ghrelin 可能参与了宫内 IUGR 胎鼠的生理调节或病理过程。本研究结果显示, ghrelin 与 nesfatin-1 共同表达于胃黏膜。生后当天 ghrelin mRNA 及蛋白

在 3 组仔鼠胃黏膜表达无差异, 但生后 12 d 开始 RC 组高于 CC 组, 断奶后两组无差异。RR 组于 12 d 后始终低于 RC 组及 CC 组。与既往研究结果一致^[13,17]。提示 ghrelin 参与了 IUGR 仔鼠生后早期的营养调控。Ghrelin 与 nesfatin-1 在胃内的表达变化趋势一致, 提示 nesfatin-1 和 ghrelin 作为脑肠肽相互作用, 相互协调, 在摄食及能量代谢中发挥重要作用。两者之间的相互作用尚需进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Vieau D. Perinatal nutritional programming of health and metabolic adult disease[J]. World J Diabetes, 2011, 2(9): 133-136.
- [2] Oh IS, Shimizu H, Satoh T, et al. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus[J]. Nature, 2006, 443(7112): 709-712.
- [3] Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach[J]. Nature, 1999, 402(6762): 656-660.
- [4] Cheng YY, Zhao XM, Cai BP, et al. Nesfatin-1 in newborns: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures[J]. J Pediatr Endocr Met, 2012, 25(7-8): 727-732.
- [5] 程亚颖, 宫丽芬, 宋光耀, 等. 不同胎龄及体重新生儿血 Ghrelin、胰岛素样生长因子-1、胰岛素样生长因子结合蛋白-3、胰岛素水平检测分析[J]. 中国妇幼保健杂志, 2011, 26(26): 4050-4052.
- [6] Mohan H, Unniappan S. Ontogenic pattern of nucleobindin-2/nesfatin-1 expression in the gastroenteropancreatic tissues and serum of Sprague Dawley rats[J]. Regul Pept, 2012, 175(1-3): 61-69.
- [7] Coupé B1, Amarger V, Grit I, et al. Nutritional programming affects hypothalamic organization and early response to leptin[J]. Endocrinology, 2010, 151(2): 702-713.
- [8] Atsuchi K, Asakawa A, Ushikai M, et al. Centrally administered nesfatin-1 inhibits feeding behaviour and gastroduodenal

- motility in mice[J]. Neuroreport, 2010, 21(15): 1008-1011.
- [9] Shimizu H, Oh-I S, Hashimoto K, et al. Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism [J]. Endocrinology, 2009, 150(2): 662-671.
- [10] Stengel A, Goebel M, Wang L, et al. Central nesfatin-1 reduces darkphase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor 2 receptor[J]. Endocrinology, 2009, 150(11): 4911-4919.
- [11] Stengel A, Goebel M, Yakubov I, et al. Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa[J]. Endocrinology, 2009, 150(1): 232-238.
- [12] Zhang AQ, Li XL, Jiang CY, et al. Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(14): 1735-1741.
- [13] Kerbel B1, Unniappan S. Nesfatin-1 suppresses energy intake, co-localises ghrelin in the brain and gut, and alters ghrelin, cholecystokinin and orexin mRNA expression in goldfish[J]. J Neuroendocrinol, 2012, 24(2): 366-377.
- [14] Moesgaard SG, Ahrén B, Carr RD, et al. Effects of high-fat feeding and fasting on ghrelin expression in the mouse stomach[J]. Regul Pept, 2004, 120(1-3): 261-267.
- [15] Aydin S, Sahin I, Ozkan Y, et al. Examination of the tissue ghrelin expression of rats with diet-induced obesity using radioimmunoassay and immunohistochemical methods[J]. Mol Cell Biochem, 2012, 365(1-2): 165-173.
- [16] 杨慧明, 毛萌, 杨凡, 等. Ghrelin 及受体 GHSR 表达变化与宫内发育受限仔鼠追赶生长的关系 [J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(7): 563-568.
- [17] Stengel A, Goebel M, Wang LX, et al. Ghrelin, des-acyl ghrelin and nesfatin-1 in gastric X/A-like cells: Role as regulators of food intake and body weight[J]. Peptides, 2010, 31(2): 357-369.

(本文编辑: 王庆红)