

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.04.009

DVC orexin-A 通过调控 ghrelin 受体信号通路改善顺铂所致大鼠胃功能紊乱*

张雪华^{1,2} 刘雪环¹ 孙向荣¹ 金婷婷¹ 徐 璐^{1Δ}

(1 青岛大学医学院病理生理学教研室 山东 青岛 266021; 2 曹县人民医院急诊科 山东 菏泽 274000)

摘要 目的:探讨迷走神经复合体(Dorsal vagal complex, DVC)内 orexin-A 对顺铂所致胃功能紊乱的影响及可能机制。**方法:**随机选取 30 只大鼠并将其分为 3 组(n=10):对照组(NS 组);24 h 顺铂治疗组;48 h 顺铂治疗组。24 h 顺铂治疗组和 48 h 顺铂治疗组大鼠分别在腹腔注射顺铂后 24 h 和 48 h 处死大鼠,对照组大鼠腹腔注射生理盐水(Normal saline, NS)。采用定量实时 PCR 检测各组大鼠下丘脑 orexin-A mRNA 的表达,ELISA 测量大鼠脑脊液中 P 物质水平;DVC 内微量注射 orexin-A 和 ghrelin 受体拮抗剂后,检测大鼠食物和高岭土的摄入量。**结果:**顺铂可显著减少大鼠下丘脑 orexin-A mRNA 表达,增加其脑脊液内 P 物质的浓度。外源性 orexin-A 可改善顺铂引起的厌食症和异食癖。orexin-A 以上的效应可被 DVC 内预先注射 ghrelin 受体拮抗剂部分逆转。**结论:**orexin-A 可能通过 ghrelin 神经肽系统改善顺铂在化疗过程中诱导的胃功能紊乱。

关键词:Orexin-A; DVC; 顺铂; 胃功能紊乱

中图分类号:R-33; R338.2; R730.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)04-643-05

Effect of DVC Orexin-A on the Gastric Dysfunction Induced by Cisplatin Via Regulating the Ghrelin Receptor Signaling Pathway*

ZHANG Xue-hua^{1,2}, LIU Xue-huan¹, SUN Xiang-rong¹, JIN Ting-ting¹, XU Luo^{1Δ}

(1 Dept. of Pathophysiology, Medical College of Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266021, China;

2 Caoxian People's hospital, Heze, Shandong, 274000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of orexin-A in Vagus nerve complex (DVC) on cisplatin-induced gastric dysfunction and its possible mechanism. **Methods:** Thirty rats were randomly selected and divided into 3 groups (n=10): control group (NS group); 24 h cisplatin-treated group; 48 h cisplatin-treated group. Rats in the 24 h cisplatin-treated group and the 48h cisplatin-treated group were sacrificed 24 h and 48 h after intraperitoneal injection of cisplatin. Rats in the control group were intraperitoneally injected with normal saline (NS). Quantitative real-time PCR was used to measure the expression of orexin-A mRNA in hypothalamus of each group of rats. The concentration of substance P in cerebrospinal fluid of rats was measured by ELISA; After microinjection of orexin-A and ghrelin receptor antagonists into DVC, the intake of rat food and kaolin was measured in cisplatin treated rats. **Results:** Cisplatin significantly reduced orexin-A mRNA expression in the hypothalamus, and cisplatin increases the concentration of substance P in the cerebrospinal fluid of rats. Exogenous orexin-A improve cisplatin-induced anorexia and pica. The effects of above orexin-A can be partially blocked by pre-injection of ghrelin receptor antagonists in DVC. **Conclusion:** Orexin-A may improve the gastric dysfunction induced by cisplatin during chemotherapy through the ghrelin neuropeptide system.

Key words: Orexin-A; DVC; Cisplatin; Gastric dysfunction

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R338.2; R730.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)04-643-05

前言

顺铂是化学治疗各种癌症的重要组成成分^[1],在化疗过程中可引起多种副作用,例如恶心和呕吐^[2]。与呕吐相关的中枢神经递质主要有 5 羟色胺(5-HT)、P 物质、多巴胺、乙酰胆碱和神经激肽 1 等,虽然已有研究发现 5-HT₃ 受体拮抗剂和神经激肽-1 受体拮抗剂可预防化疗引起的恶心和呕吐等副作用,但是临

床上许多患者仍会出现胃肠功能紊乱,特别是在治疗的后期阶段^[3]。顺铂主要通过促进中枢 P 物质 mRNA 表达从而增加 P 物质在脑内的含量,并进一步改变大鼠胃肠运动^[4]。研究表明顺铂等化疗药物能增加人血浆中 P 物质含量^[5,6],而且 P 物质可穿过血脑屏障在中枢发挥作用^[7]。P 物质是含有 11 个氨基酸的多肽,与神经激肽 A (Neurokinin A, NKA) 和神经激肽 B (Neurokinin B, NKB) 共同属于速激肽家族。而速激肽受体有 NK-1、

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81270460)

作者简介:张雪华(1980-),硕士研究生,主要研究方向:能量代谢障碍基础与临床,电话:0532-82991713, E-mail: 954125381@qq.com

Δ 通讯作者:徐璐,教授, E-mail: xu.luo@163.com

(收稿日期:2019-05-23 接受日期:2019-06-18)

NK-2 和 NK-3, 其中 P 物质与 NK-1 的亲合力最强。P 物质和 P 物质免疫反应样物质存在于嗜铬细胞、迷走神经、孤束核、最后区等化疗呕吐产生的关键部位^[8]。

顺铂可影响多种摄食相关肽的表达, 如腹腔注射顺铂可导致 proopiomelanocortin (POMC)、可卡因、苯丙胺调节的转录物 (Cocaine- and amphetamine-regulated, CART) 的表达增加, 同时减少神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY) 和 ghrelin 的表达^[9,10]。在啮齿类动物或人类中, 注射 ghrelin 可改善化疗药物顺铂诱导的厌食症^[9,11]。Orexin-A 主要由中枢神经系统中的下丘脑外侧区 (Lateral hypothalamic area, LHA) 神经元、下丘脑背内侧区 (Dorsal motor nucleus, DMN) 神经元以及穹隆周围区 (Perifornical area, PeF) 神经元产生^[12,13]。这些神经元在脑内具有广泛的投射, 包括弓状核 (Arcuate nucleus, Arc)、下丘脑腹内侧核 (Ventromedial hypothalamus, VMH)、臂旁核、中央灰质、孤束核等^[14]。最近有研究表明, 侧脑室或 LHA 注射 orexin-A 可增加大鼠的食物摄入量^[15,16]。在啮齿动物中枢注射 orexin-A 可促进大鼠胃肠运动, 并增加摄食量和体重^[17,18]。LHA 内的 orexin 神经元可激活延髓背侧运动核 (Dorsal motor nucleus, DMN) 中的神经元, 从而促进胃肠运动, 刺激胰腺分泌。因此, 食欲素信号传导的减少可能在功能性胃肠功能紊乱的发病机理中发挥着重要作用^[19]。

Ghrelin 是一种主要由胃底粘膜细胞分泌的含有 28 个氨基酸的脑肠肽, 被认为是 GH 促分泌素受体 (GHSR) 的内源性配体。迄今为止, ghrelin 是唯一已知的外周促食欲激素^[20], 摄食调节是 ghrelin 主要生理功能之一^[21]。GHSR 广泛分布于整个大脑, 尤其在迷走神经复合体 (DVC) 高度表达^[22], 表明 DVC 是 ghrelin 参与摄食调控的重要脑区。曾有研究表明, 大鼠 DVC 注射 ghrelin 可显著增加摄食量^[23]。与 ghrelin 类似, orexin-A 也在摄食和能量平衡的调控中也发挥着重要作用。然而 orexin-A 是否和 ghrelin 类似可参与顺铂诱导的副作用, 尚未有研究报道。因此, 本研究主要探讨了 DVC 内微量注射 orexin-A 对顺铂所致大鼠食欲减退和异食癖、下丘脑内 orexin-A 和 P 物质的表达的影响及与 ghrelin 受体信号通路的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 Wistar 大鼠, 体质量在 250-300 g, 所有大鼠均在室温为 25±2℃、昼夜循环光照时间为 08:00 至 20:00 的环境下进行饲养, 给予实验室标准饮食, 自由进食和饮水。所有动物实验均由青岛大学动物护理和使用委员会批准。

1.2 Real-time PCR

本部分实验主要观察顺铂对下丘脑内 orexin-A 表达的影响, 随机选取 30 只大鼠分为 3 组 (n=10): 对照组 (NS 组); 24 h 顺铂治疗组; 48 h 顺铂治疗组。24 h 顺铂治疗组和 48 h 顺铂治疗组大鼠分别在腹腔注射 (i.p.) 顺铂后 24 h 和 48 h 处死大鼠, 对照组大鼠腹腔注射生理盐水 (NS)。

快速提取分离脑组织, 收集 150-200 mg 下丘脑组织并储存于 -80℃ 用于接下来实验。采用 TRIzol Plus RNA Purification 试剂盒 (Invitrogen, CA, USA) 提取总 RNA。使用 First strand cDNA synthesis 试剂盒 (Pharmacia Biotech, Piscataway,

NJ, USA) 进行逆转录: 总 RNA (1 μg) 在 37℃ 条件下逆转录 1 h, 并在 93℃ 下孵育 5 min 后终止。采用具有 SYBR Green 的 Gene Amp 5700 序列检测系统 (Applied Biosystems, Warrington, UK) 进行实时 PT-PCR 分析。引物序列: orexin-A 上游引物: 5'-TGTGTGACGAGCTGGCAACC-3'; 下游引物: 5'-GATGCCAGCTGCGTGGTTACC-3', 扩增长度 128 bp; 94℃ 持续 15 s; 59℃ 持续 1 min, 共 40 个循环。通过 Gene Amp 5700 SDS 软件 (Applied Biosystems, Warrington, UK) 分析数据。Orexin-A 相对含量计算如下: $\Delta Ct = Ct_{\text{orexin-A}} - Ct_{\beta\text{-Actin}}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{顺铂组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}}$ 。

1.3 脑脊液中 P 物质检测

采用 ELISA 测量大鼠脑脊液中 P 物质, 以判断大鼠的呕吐程度。将 40 只大鼠随机分为 4 组 (n=10): (1) NS+NS 组: 腹腔注射 NS, DVC 注射 NS; (2) 顺铂 +NS 组: 腹腔注射顺铂 (4 mg/kg), DVC 注射 NS; (3) 顺铂 +orexin-A 组: 腹腔注射顺铂 (4 mg/kg), DVC 注射 orexin-A (150 pmol); (4) 顺铂 +orexin-A + [D-Lys-3]-GHRP-6 组: 腹腔注射顺铂 (4 mg/kg), DVC 注射 orexin-A (150 pmol) 和 [D-Lys-3]-GHRP-6 (30 nmoL, Tocris Bioscience, USA) 混合液。

用 0.05 M 碳酸盐包被缓冲液将抗体稀释至蛋白质含量为 1~10 μg/mL。在每个聚苯乙烯板的反应孔中加 0.1 mL, 4℃ 过夜。次日, 弃去孔内溶液, 用洗涤缓冲液洗 3 次, 每次 3 分钟。随后将一定稀释的待检样品 0.1 mL 加于上述已包被的反应孔中, 放置在 37℃ 环境中孵育 1 h。然后洗涤。(同时做空白孔, 阴性对照孔及阳性对照孔)。在各反应孔中, 加入新鲜稀释的酶标抗体 0.1 mL。37℃ 条件下孵育 0.5~1 h, 洗涤。各反应孔中加入临时配制的 TMB 底物溶液 0.1 mL, 37℃ 10~30 分钟。最后在各反应孔中加入 2 M 硫酸 0.05 mL。结果判定: 在白色背景上, 直接用肉眼观察结果: 反应孔内颜色越深, 阳性程度越强, 阴性反应为无色或极浅, 依据所呈颜色的深浅, 以 "+"、"-" 号表示。也可测 OD 值: 在 ELISA 检测仪上, 在 450 nm 处, 以空白对照孔调零后测各孔 OD 值, 若大于规定的阴性对照 OD 值的 2.1 倍, 即为阳性。

1.4 脑室置管

大鼠禁食过夜, 麻醉后置于脑立体定位仪上。根据大鼠脑图将 24- 号不锈钢导管植入到 DVC 内 (位置如上所述) 用于药物注射^[24]。大鼠恢复一周后开始进行下一步实验。

1.5 食物和高岭土摄入量测量

将 40 只大鼠随机分为 4 组 (n=10): (1) NS+NS 组: 腹腔注射 NS, DVC 注射 NS; (2) 顺铂 +NS 组: 腹腔注射顺铂 (4 mg/kg), DVC 注射 NS; (3) 顺铂 +orexin-A 组: 腹腔注射顺铂 (4 mg/kg), DVC 注射 orexin-A (150 pmol); (4) 顺铂 +orexin-A + [D-Lys-3]-GHRP-6 组: 腹腔注射顺铂 (4 mg/kg), DVC 注射 orexin-A (150 pmol) 和 [D-Lys-3]-GHRP-6 (30 nmol, Tocris Bioscience, USA) 混合液。

根据先前的研究方法, 注射顺铂前后 5 d 测量大鼠对食物和高岭土摄入量^[25]。采用自动检测系统测量大鼠随食物和高岭土的累积摄入量, 自动检测系统 (FDM700SW, Melquest, Japan) 由丙烯酸笼、两个容器和重量传感器组成。在实验前 3 d, 将大鼠放置在实验笼以适应实验环境。在整个实验期间大鼠自由摄

入食物和高岭土,自由饮水。在实验当天,测量大鼠在注射药物后食物和高岭土摄入量。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,实验数据均以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,组间比较采用 t 检验或单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 顺铂减少下丘脑 orexin-A mRNA 的表达

如图 1 所示,与 NS 组相比,顺铂治疗 24 h 后,orexin-A mRNA 的表达显著减少(24 h 顺铂治疗组: 0.92 ± 0.22 vs. NS 组: 1.9 ± 0.35 ; $P < 0.05$);顺铂治疗 48 h 后,orexin-A mRNA 表达也显著低于 NS 组大鼠(48 h 顺铂治疗组: 0.76 ± 0.25 vs. NS 对照组: 1.9 ± 0.35 ; $P < 0.05$)。此外,24 h 顺铂治疗组大鼠和 48 h 顺铂治疗组大鼠下丘脑 orexin-A mRNA 的表达比较无显著差异($P > 0.05$)。

2.2 顺铂、orexin-A 对大鼠脑脊液 P 物质浓度的影响

与 NS+NS 对照组相比,顺铂+NS 组大鼠脑脊液中 P 物质浓度显著升高($P < 0.05$),与顺铂+NS 组相比,Orexin-A 可显著降低大鼠脑脊液中 P 物质的浓度($P < 0.05$),与顺铂+orexin-A 组相比,DVC 微量注射 orexin-A 和 [D-Lys-3]-GHRP-6 后,大鼠脑脊液 P 物质的浓度升高($P < 0.05$),见图 2。

2.3 DVC 内注射 orexin-A 改善顺铂诱导的厌食症

如图 3 所示,与 NS+NS 组大鼠相比,在顺铂治疗后的 12h,大鼠摄食量减少,顺铂诱导的这种厌食作用持续 5 天。与 NS+NS 组相比,顺铂+NS 组大鼠 1-5 d 累积摄食量降低 40% (图 3)。与顺铂+NS 组大鼠相比,顺铂+orexin-A 组中大鼠摄食量显著增加($P < 0.05$,图 3),提示 DVC 内注射 orexin-A (0.5 μg) 可改善顺铂诱导的厌食症。

2.4 DVC 内注射 orexin-A 可改善顺铂诱导的异食癖

顺铂+NS 组大鼠 1-5d 内高岭土的日累计摄入量分别为: $6.21 \pm 1.69 \text{ g}$, $3.87 \pm 0.89 \text{ g}$, $3.15 \pm 0.87 \text{ g}$, $3.54 \pm 0.94 \text{ g}$, $4.01 \pm 1.01 \text{ g}$,均显著高于 NS+NS 组大鼠($P < 0.01$,图 4),提示顺铂治疗可诱导大鼠出现异食癖(高岭土摄入量增加),并且这种副作用可持续 5 d。顺铂+orexin-A 组大鼠 1-5 d 内日累计高岭土摄入量分别是 $3.89 \pm 0.98 \text{ g}$, $2.14 \pm 0.54 \text{ g}$, $2.16 \pm 0.84 \text{ g}$, $2.11 \pm 0.84 \text{ g}$, $2.04 \pm 0.36 \text{ g}$,显著低于顺铂+NS 组($P < 0.05$,图 4),提示 DVC 每日注射 orexin-A (0.5 μg) 可改善顺铂诱导的异食癖。

2.5 DVC 内注射 orexin-A 对 Ghrelin 受体信号通路的影响

在 DVC 注射内注射 orexin-A 和 ghrelin 受体拮抗剂 [D-Lys-3]-GHRP-6 (60 nmol) 混合液后,检测顺铂诱导的食物和高岭土的摄入变化。结果显示 [D-Lys-3]-GHRP-6 可部分逆转了 orexin-A 的效应(与顺铂+orexin-A 组相比, $P < 0.05$,图 3-4),提示 ghrelin 在 orexin-A 改善顺铂诱导副作用中发挥着重要作用。

3 讨论

Orexin-A 免疫阳性神经元主要位于 LHA 和 PeF,其受体可广泛分布于整个大脑,包括 PVN,DVC,ARC,隔核等脑区^[14]。因此,orexin-A 可能在多种复杂的生理功能中发挥着重要作

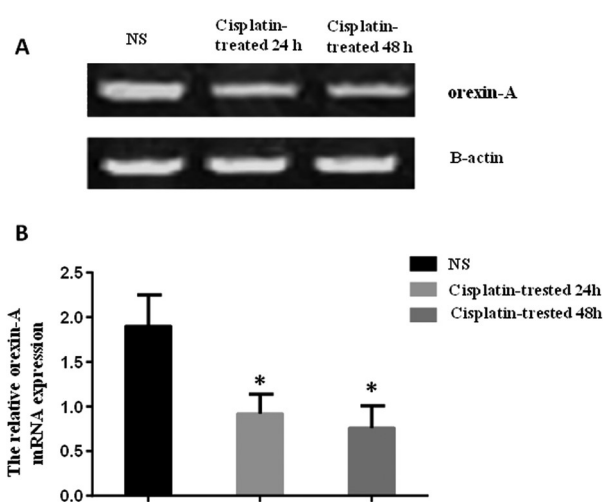


图 1 顺铂对下丘脑 orexin-A mRNA 表达的影响

A: 24 h 顺铂治疗组和 48 h 顺铂治疗组 orexin-A mRNA 的电泳凝胶; B: NS 组, 24 h 顺铂治疗组和 48 h 顺铂治疗组相对 orexin-A mRNA。* $P < 0.05$, 与 NS 组相比

Fig.1 Effect of cisplatin on the expression of orexin-A mRNA in the hypothalamus

A: mRNA electrophoresis gel of the orexin-A mRNA in 24 h and 48 h after cisplatin treatment; B: The NS group, 24 h cisplatin treatment group and 48 h cisplatin treatment group relative orexin-A mRNA. * $P < 0.05$, compared with the NS group

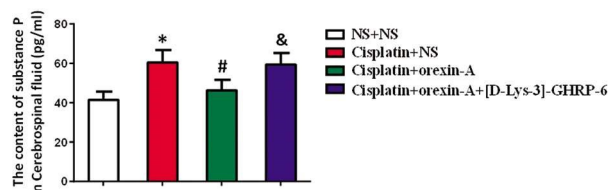


图 2 顺铂、orexin-A 对大鼠脑脊液 P 物质浓度的影响

* $P < 0.05$, 与 NS+NS 组相比; # $P < 0.05$, 与顺铂+NS 组相比; & $P < 0.05$, 与顺铂+orexin-A 组相比

Fig.2 Effect of cisplatin and orexin-A on the concentration of substance P in the cerebrospinal fluid of rats

* $P < 0.05$, compared with NS+NS group; # $P < 0.05$, compared with cisplatin + NS group; & $P < 0.05$, compared with cisplatin + orexin-A group

用。有研究表明顺铂诱导的呕吐的主要病因主要取决于在化学感受器触发区和呕吐中心激活 5-HT, P 物质和其他神经递质的能力^[26]。在本研究中,我们发现顺铂可抑制 orexin-A mRNA 的表达,并且增高脑脊液 P 物质的浓度,提示 orexin-A 可能是顺铂诱导呕吐的重要调节剂。此外,在顺铂治疗后的 24 h 和 48 h orexin-A mRNA 的表达均降低,提示在癌症化疗期间,顺铂对摄食的急性或慢性抑制作用会持续存在。

DVC 是由晕动病和化学药物引起的恶心和呕吐的主要功能区域之一,可整合来自呕吐相关中枢核和迷走神经的信号,以控制身体的自主呕吐反应^[27]。研究表明 DVC 部分通过 5-HT 受体途径参与恶心和呕吐的调控^[28]。尽管这些研究集中于 5-HT,但其他神经递质可能参与这种复杂的呕吐反应。Orexin-A 受体可激活多种神经通路,如蛋白激酶 C 介导的 Ca^{2+} 信号通路,用于伤害性和疼痛调节^[29]; PI3K/AKT 信号通路,用于细胞稳定性和存活的调节^[30];以及阿片受体调节中的 JNK 信号通路^[31]。以上的研究结果表明 orexin-A 信号的摄食调控中的作

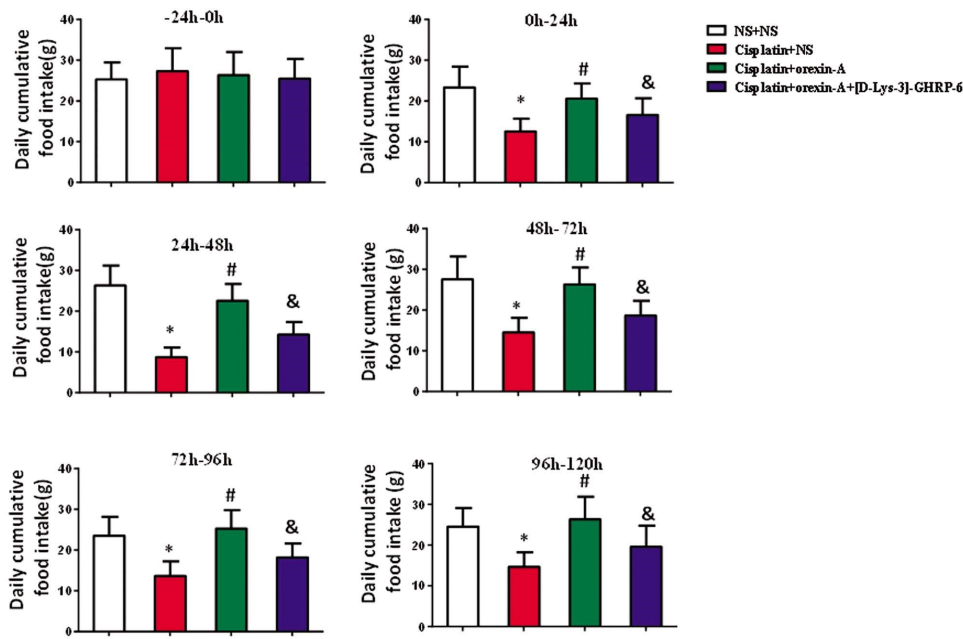


图3 DVC微量注射 orexin-A 对顺铂诱导的大鼠厌食症的影响

Orexin-A 降低了顺铂诱导的大鼠厌食症和 ghrelin 受体拮抗剂[D-Lys-3]-GHRP-6 部分阻断 orexin-A 的效应。* $P<0.05$,与 NS+NS 组相比; # $P<0.05$,与顺铂 +NS 组相比; & $P<0.05$,与顺铂 +orexin-A 组相比

Fig.3 Effect of DVC microinjection of orexin-A on cisplatin-induced anorexia in rats

Orexin-A reduced the effect of cisplatin-induced anorexia in rats and ghrelin receptor antagonist [D-Lys-3]-GHRP-6 partially blocking the effect of orexin-A. * $P<0.05$, compared with NS+NS group; # $P<0.05$, compared with cisplatin + NS group; & $P<0.05$, compared with cisplatin + orexin-A group

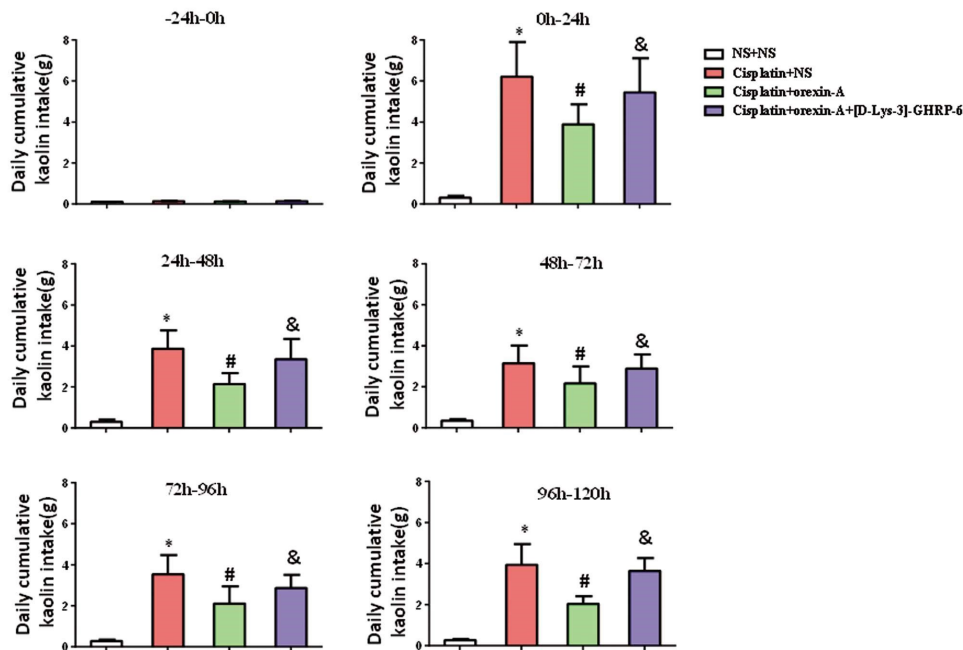


图4 DVC微量注射 orexin-A 对顺铂诱导的大鼠异食癖的影响。

Orexin-A 降低了顺铂诱导的大鼠异食癖和 ghrelin 受体拮抗剂[D-Lys-3]-GHRP-6 部分阻断 orexin-A 的效应。* $P<0.05$,与 NS+NS 组相比; # $P<0.05$,与顺铂 +NS 组相比; & $P<0.05$,与顺铂 +orexin-A 组相比

Fig.4 Effect of DVC microinjection of orexin-A on cisplatin-induced pica in rats.

Orexin-A reduced the effect of cisplatin-induced pica in rats and ghrelin receptor antagonist [D-Lys-3]-GHRP-6 partially blocking the effect of orexin-A.

* $P<0.05$, compared with NS+NS group; # $P<0.05$, compared with cisplatin + NS group; & $P<0.05$, compared with cisplatin + orexin-A group

用。本研究结果显示 DVC 外源性 orexin-A 可显著增加大鼠摄食,并减轻大鼠异食癖。此外,在正常大鼠中 ARC 内注射 orexin-A 可使 1 h 内摄食量增加 12 倍^[32]。在我们的研究中,DVC 内注射 orexin-A,顺铂治疗组大鼠在 6 h 内摄食量仅出现

中度增加。异食癖通常用于评估顺铂诱导的呕吐和止吐效果^[33,25],DVC 内注射 orexin-A,顺铂治疗组大鼠的高岭土摄入量减少,异食癖减轻,以上研究结果表明 orexin-A 可改善顺铂诱导的副作用。

综上所述,我们的研究结果表明 DVC 给予 orexin-A 可能通过 ghrelin 神经肽系统改善顺铂在化疗过程中诱导的胃功能紊乱。这为临床治疗顺铂诱导的副作用提供了新的治疗方向。

参考文献(References)

- [1] Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(8): 573-584
- [2] Janicki PK. Management of acute and delayed chemotherapy-induced nausea and vomiting: role of netupitant-palonosetron combination[J]. *Ther. Clin. Risk Manag*, 2016, 12(3): 693-699
- [3] Lorusso V. Management of chemotherapy-induced nausea and vomiting by risk profile: role of netupitant/palonosetron [J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2016, 12(2): 917-925
- [4] Pagnoux C, Hajji-Ali RA. Pharmacological approaches to CNS vasculitis: where are we at now?[J]. *Expert review of clinical pharmacology*, 2016, 9(1): 109-116
- [5] Rudd JA, Yamamoto K, Yamatodani A, et al. Differential action of ondansetron and dexamethasone to modify cisplatin-induced acute and delayed kaolin consumption ("pica") in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 454(1): 47-52
- [6] Saeiki M, Sakai M, Saito R, et al. Effects of HSP-117, a novel tachykinin NK1receptor antagonist, on cisplatininduced pica as a new evaluation of delayed emesis in rats[J]. *Jpn J Pharmacol*, 2001, 86(3): 359-362
- [7] Fujisaki Y, Yamauchi, Shuto H, et al. Pharmacological characterization of cyclosporine A-induced kaolin intake in rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2001, 70(1): 267-271
- [8] 张晓静, 张频. 肿瘤化疗所致恶心呕吐的发生机制和药物治疗的研究进展[J]. *癌症进展*, 2006, 4(4): 348-353
- [9] Liu Y L, Malik N M, Sanger G J, et al. Ghrelin alleviates cancer chemotherapy-associated dyspepsia in rodents [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2006, 58(3): 326-333
- [10] Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, et al. The gene expression of the hypothalamic feeding-regulating peptides in cisplatin-induced anorexic rats[J]. *Peptides*, 2013, 46(2): 13-19
- [11] Tanaka Y, Ueno T, Yoshida N, et al. The effect of an elemental diet on oral mucositis of esophageal cancer patients treated with DCF chemotherapy: a multi-center prospective feasibility study (EPOC study)[J]. *Esophagus*, 2018, 15(4): 239-248
- [12] de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(7): 322-327
- [13] Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior[J]. *Cell*, 1998, 92(4): 573-585
- [14] Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, et al. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems [J]. *J Neurosci*, 1998, 18(8): 9996-10015
- [15] Luan X, Sun X, Guo F, et al. Lateral hypothalamic Orexin-A-ergic projections to the arcuate nucleus modulate gastric function in vivo [J]. *J Neurochem*, 2017, 143(6): 697-707
- [16] Qiao SN, Zhou W, Liu LL, et al. Orexin-A Suppresses Signal Transmission to Dopaminergic Amacrine Cells From Outer and Inner Retinal Photoreceptors [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(11): 4712-4721
- [17] Baccari MC. Orexins and gastrointestinal functions [J]. *Curr Protein Pept*, 2010, 11(2): 148-155
- [18] Bulbul M, Travagli RA. Novel transmitters in brain stem vagal neurocircuitry: new players on the pitch [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2018, 315(1): G20-G26
- [19] Okumura T, Nozu T. Role of brain orexin in the pathophysiology of functional gastrointestinal disorders [J]. *J. Gastroenterol. Hepatol*, 2011, 26 (Suppl. 3): 61-66
- [20] Wren AM, Small CJ, Abbott CR, et al. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats[J]. *Diabetes*, 2001, 50(11): 2540-2547
- [21] Vander Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, et al. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin [J]. *Endocrine Reviews*, 2004, 25(3): 426-457
- [22] Zigman JM, Jones JE, Lee CE, et al. Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain [J]. *Journal of Comparative Neurology*, 2006, 494(3): 528-548
- [23] Faulconbridge LF, Cummings DE, Kaplan JM, et al. Hyperphagic effects of brainstem ghrelin administration [J]. *Diabetes*, 2003, 52(9): 2260-2265
- [24] Paxinos GW, Charles. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, New York, November 7, 2013
- [25] Yamamoto K, Asano K, Tasaka A, et al. Involvement of substance P in the development of cisplatin-induced acute and delayed pica in rats [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(11): 2888-2899
- [26] Ranganath P, Einhorn L, Albany C. Management of chemotherapy induced nausea and vomiting in patients on multiday cisplatin based combination chemotherapy[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 11(2): 943-618
- [27] Pirnik Z, Bundziková J, Holubová M, et al. Ghrelin agonists impact on Fos protein expression in brain areas related to food intake regulation in male C57BL/6 mice[J]. *Neurochem Int*, 2011, 59(6): 889-895
- [28] Skoog KM, Blair ML, Sladek CD, et al. Area postrema: essential for support of arterial pressure after hemorrhage in rats [J]. *Am J Phys*, 1990, 258(6): R1472-1478
- [29] Ishikawa M, Aono Y, Saigusa T. Role of orexin receptor subtypes in the inhibitory effects of orexin-A on potassium chloride-induced increases in intracellular calcium ion levels in neurons derived from dorsal root ganglion of carrageenan-treated rats [J]. *J Oral Sci*, 2017, 59(4): 557-564
- [30] Ju SJ, Zhao Y, Chang X, et al. Orexin A protects cells from apoptosis by regulating FoxO1 and mTORC1 through the OX1R/PI3K/AKT signaling pathway in hepatocytes [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(1): 153-159
- [31] Robinson JD, McDonald PH. The orexin 1 receptor modulates kappa opioid receptor function via a JNK-dependent mechanism [J]. *Cell Signal*, 2015, 27(7): 1449-1456
- [32] Muroya S, Funahashi H, Yamanaka A, et al. Orexins (hypocretins) directly interact with neuropeptide Y, POMC and glucose-responsive neurons to regulate Ca^{2+} signaling in a reciprocal manner to leptin: orexigenic neuronal pathways in the mediobasal hypothalamus[J]. *Eur J Neurosci*, 2004, 19(6): 1524-1534
- [33] Sun X, Xu L, Guo F, et al. Neurokinin-1 receptor blocker CP-99 994 improved emesis induced by cisplatin via regulating the activity of gastric distention responsive neurons in the dorsal motor nucleus of vagus and enhancing gastric motility in rats [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2017, 29(10): 1-11