

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.14.009

下丘脑室旁核 orexin-A 对大鼠摄食和胃动力影响及调控机制*

王金鹏^{1,2} 王咪¹ 郭菲菲¹ 徐璐^{1Δ}

(1 青岛大学 山东 青岛 266021; 2 山东省单县东大医院 山东 菏泽 274031)

摘要 目的:探讨下丘脑室旁核 orexin-A 对大鼠摄食和胃动力影响及调控机制。**方法:**采用免疫组化观察下丘脑室旁核(paraventricular nucleus, PVN) orexin 受体表达情况;PVN 注射 orexin-A 观察大鼠摄食、胃运动、胃酸分泌和胃排空的改变。**结果:**免疫组化实验显示大鼠 PVN 中存在 orexin 受体免疫阳性细胞。PVN 注射 orexin-A 后,大鼠前三小时摄食增加,6 h 和 24 h 摄食无显著改变。PVN 微量注射 orexin-A 后,大鼠胃运动幅度和频率增加、胃排空增快并且胃酸分泌增多。[D-Lys-3]-GHRP-6 可部分阻断 orexin-A 对摄食、胃运动、胃排空和胃酸分泌的促进作用,SB334867 可完全阻断 orexin-A 对胃运动、胃排空和胃酸分泌的促进作用。**结论:**下丘脑室旁核 orexin-A 可能通过生长激素促分泌素 GHSR 受体信号通路调控大鼠摄食及胃功能。

关键词:食欲素 A;下丘脑室旁核;摄食;生长素

中图分类号:R-33;R338.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)14-2647-05

Effects of Orexin-A on the Feeding and Gastric Motility of Rats in Paraventricular Nucleus and Its Regulatory Mechanism*

WANG Jin-peng^{1,2}, WANG Mi¹, GUO Fei-fei¹, XU Luo^{1Δ}

(1 Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266021, China; 2 Dong Da Hospital, Heze, Shandong, 274031, China)

ABSTRACT Objective: To study the effect of orexin-A on the feeding and gastric motility of rats in paraventricular nucleus and its regulatory mechanism. **Methods:** The expression of PVN orexin receptor was observed by immunohistochemistry. The changes of food intake, gastric motility, gastric acid secretion and gastric emptying were observed after PVN injection of orexin-A. **Results:** Immunohistochemistry showed orexin receptor-positive immunoreactive cells in the PVN of rats. After PVN injection of orexin-A, the feeding of rats increased in the first three hours, and there was no significant change in 6h and 24 h. After microinjection of orexin-A into PVN, the gastric motility amplitude and frequency, gastric emptying and gastric acid secretion of rats were increased. [D-Lys-3]-GHRP-6 partially blocked the promotion of food intake, gastric motility, gastric emptying and gastric acid secretion by orexin-A. SB334867 completely blocked the promotion of orexin-A on gastric motility, gastric emptying and gastric acid secretion. **Conclusion:** Orexin-A in the hypothalamic paraventricular nucleus could regulate the feeding and gastric function through GHSR receptor signaling pathway.

Key words: Orexin-A; PVN; Food intake; Ghrelin

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

Article ID: 1673-6273(2018)14-2647-05

前言

Orexin-A 和 orexin-B 在摄食以及奖赏通路中具有重要作用,这两种肽具有相同的氨基酸前体,下丘脑约有 6700 个含有 orexin mRNA 的神经元,从下丘脑背内侧核穿过穹窿周区(perifornical area, PFA)进入外侧区(lateral hypothalamic area, LHA)^[1-3]。研究显示向啮齿动物的侧脑室^[4]、下丘脑室旁核(paraventricular nucleus, PVN)^[5,6]、LHA 以及 PFA^[6,7]微量注射 orexin 能够促进其摄食。Orexin-A 及 orexin-B 的促食效应依赖于 orexin-A 受体(OXR)^[5,7]。外周注射 OX1R 拮抗剂 SB-334867 能够抑制动物对高脂食物的摄取^[8-10]。但研究表明第三脑室微量注射 orexin-A 能够促进动物对高脂饮食及高糖饮食的摄取,并且对

高脂饮食摄取的促进作用强于对高糖饮食的摄取^[11]。外周注射 SB-334867 并不能抑制动物对高糖饮食的摄取^[12-14]。同时还有研究发现,敲除 orexin 前原肽的小鼠对蔗糖的摄取量明显低于其野生型小鼠^[15]。

生长素(ghrelin)是生长激素促分泌素受体(GHSR)的内源性配体,主要从胃中分离出来的^[16],在 Ghrelin 的中枢和外周给药可显著增加大鼠或小鼠摄食量^[17-20]。以往研究表明中枢和外周注射 ghrelin 可激活大鼠摄食相关领域如 PVN 等^[21]。[D-Lys-3]-GHRP-6 为 GHSR 的受体拮抗剂,已有研究表明其可阻断 ghrelin 诱导的摄食。有研究表明中枢注射 ghrelin 诱导的摄食可被食欲素 A 和食欲素 B 抗体削弱^[22],与野生型小鼠相比,食欲素基因敲除的小鼠 ghrelin 诱导的摄食明显降低^[22]。这

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81470815)

作者简介:王金鹏(1987-),硕士研究生,主要研究方向:神经内分泌,电话:0532-82991713, E-mail: wangmi137@qq.com

Δ 通讯作者:徐璐, E-mail: xu.luo@163.com

(收稿日期:2018-03-07 接受日期:2018-04-04)

些研究表明 ghrelin 与 orexin-A 之间可能存在通路。研究发现下丘脑 PVN 能够调控摄食、奖赏以及自主功能等^[23]。在 PVN 中发现大量的 orexin-A 进一步证明 PVN 对摄食调控的具有重要作用^[24]。本研究旨在探讨外源性 orexin-A 在 PVN 对大鼠摄食和胃动力影响及调控机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

雄性 Wistar 大鼠, 250-300 g, 购于青岛市实验动物和动物实验中心。动物房温度保持在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 相对湿度 $60 \pm 5\%$, 光照时间从早上 8:00 到晚上 8:00, 小鼠皆为标准颗粒饲料, 自由饮食进水。所有动物遵循《青岛大学实验动物保护和使用管理办法》。所有实验都按照青岛动物中心标准。

1.2 免疫组化实验

大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 麻醉, 俯卧位固定于脑立体定位仪。给予 200 mL 0.9% 的生理盐水快速灌注, 之后用 200 mL 4% 的多聚甲醛进行灌注固定。取脑浸泡于 4% 多聚甲醛中固定 4-6 h, 而后 4°C 保存在 30% 的蔗糖溶液 2-3 天。采用冰冻切片机将大鼠脑组织切成 $15\ \mu\text{m}$ 的切片。将所需部位的切片小心放于涂胶载片上, 展平, 晾干。所有切片放于 -20°C 冰箱避光冻存, 以备下一步做免疫组织化学染色。首先 PBS 溶液洗涤 3 次, 洗涤后浸于柠檬酸缓冲液中进行微波修复, 修复后滴加正常驴血清封闭非特异性抗原, 每个脑片 30-50 μL , 保持避光操作, 室温孵育 1 h。微量移液器滴加一抗, 即抗 orexin-A 受体抗体 (多克隆抗体, 1: 400 稀释), 将加好一抗的标本置于湿盒中, 4°C 过夜 (避光操作)。PBS 溶液洗涤 3 次, 然后滴加荧光素 Cy3 标记的二抗 (驴抗兔, 1: 500 稀释), 室温孵育 2 h (避光操作)。淬灭油封片后, 荧光显微镜下观察并计数细胞。

1.3 脑置管术

大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 麻醉, 俯卧位固定于脑立体定位仪。大鼠颅部正中行一纵行切口, 过氧化氢腐蚀皮下组织, 充分暴露颅骨, 参照大鼠脑图谱, 以前囟为原点定位 PVN 区 (前囟后 1.8 mm, 旁开 0.3 mm, 深 8.0 mm), 植入不锈钢套管, 聚乙烯管 (10 cm) 连接套管和注射器, 术后恢复 1 周。

1.4 摄食量的测定

为了检测 [D-Lys-3]-GHRP-6 对 orexin-A 诱导摄食的作用, 随机选取 24 只大鼠, 分成四组, 第一组: 0.5 μL 生理盐水组 ($n=6$), 第二组: 0.5 μL orexin-A 组 (10 pmol, $n=6$), 第三组: 0.5 μL [D-Lys-3]-GHRP-6 组 (2.5 pmol, $n=6$), 第四组: 0.5 μL 混合溶液 (10 pmol orexin-A+2.5 pmol [D-Lys-3]-GHRP-6, $n=6$)。大鼠禁食一晚, 于第二日白天 12:00 注射药物, 记录大鼠 0.5 h, 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h, 6 h 以及 24 h 食物摄入量。

1.5 胃运动记录

随机选取 30 只大鼠, 分为 6 组, PVN 微量注射 0.5 μL 生理盐水组 ($n=5$), PVN 微量注射 0.5 μL SB334867 组 (100 pmol, $n=5$), PVN 微量注射 0.5 μL orexin-A 组 (10 pmol, $n=5$), PVN 微量注射 0.5 μL [D-Lys-3]-GHRP-6 组 (2.5 pmol, $n=5$), PVN 微量注射 0.5 μL 混合溶液 (10 pmol orexin-A+100 pmol SB334867, $n=5$), PVN 微量注射 0.5 μL 混合溶液 (10 pmol orexin-A+2.5 pmol [D-Lys-3]-GHRP-6, $n=5$)。胃运动记录前大

鼠禁食 18 h, 放于特制鼠笼内, 将应力传感器与桥式放大器相连, 生理记录仪记录大鼠胃收缩幅度及频率。各组在给药前稳定记录胃收缩运动 30 min, 给药后记录 60 min, 观察给药前后胃收缩频率和幅度的变化, 并计算变化率。每只大鼠每天记录 1-2 h, 至少持续 2 天。

胃收缩幅度或频率变化率 = $\frac{\text{注药后幅度或频率} - \text{注药前幅度或频率}}{\text{注药前幅度或频率}} \times 100\%$

1.6 胃酸分泌量的测定

随机选取大鼠 36 只, 分为 6 组, 第一组: 生理盐水组 ($n=6$); 第二组: 10 pmol orexin-A 组 ($n=6$); 第三组: 2.5 pmol [D-Lys-3]-GHRP-6 组 ($n=6$); 第四组: 2.5 pmol [D-Lys-3]-GHRP-6+10 pmol orexin-A 组 ($n=6$); 第五组: 100 pmol SB334867 组 ($n=6$); 第六组: 100 pmol SB334867+10 pmol orexin-A 组 ($n=6$)。采用幽门结扎法检测大鼠胃酸分泌。麻醉大鼠于胃幽门与十二指肠交界处做一切口, 将双腔导管从切口处插入胃内, 固定导管同时结扎幽门。每 15 min 用 5 mL 生理盐水灌流收集胃酸一次, 共三次, 分别测量体积和 pH 值, 取其平均值作为正常基础胃酸分泌量。药物刺激后共观察 120 min, 每 15 min 用 5 mL 生理盐水灌流收集胃酸一次。将胃灌流液装入滴定管中, 在自动滴定仪上用 10 mmol/L 的 NaOH 滴定, 直至上清液先呈黄色再转为红色 2 秒内不消失为终点, 记录消耗的 10 mmol/L 的 NaOH 量, 计算不同时间段胃酸分泌量。

1.7 胃排空实验

大鼠随机分为 6 组, 第一组: 生理盐水组 ($n=6$); 第二组: 10 pmol orexin-A 组 ($n=6$); 第三组: 2.5 pmol [D-Lys-3]-GHRP-6 组 ($n=6$); 第四组: 2.5 pmol [D-Lys-3]-GHRP-6 + 10 pmol orexin-A 组 ($n=6$); 第五组: 100 pmol SB334867 组 ($n=6$); 第六组: 100 pmol SB334867 + 10 pmol orexin-A 组 ($n=6$)。将药物通过置管注入 PVN, 然后用 2 mL 酚红溶液 (1.5 mmol/L) 灌胃, 15 min 后处死大鼠。用分光光度法测定胃酚红残留率。

1.8 组织学检查

每次实验结束后, 微电极接阴极, 无关电极接阳极, 以电流强度为 50 μA 的直流电通电 20 min, 微电泳使电极内的蒽胺天蓝泳入脑组织, 标记微电极所在位置。先后用生理盐水和 4% 多聚甲醛溶液经由左心室灌流, 快速断头取脑, 4% 多聚甲醛内浸泡两天, 作 50 μm 系列冠状切片, 中性红染色, 检查电极记录位置, 位置不准确的弃去不用。

1.9 统计学分析

应用 SPSS 18.0 和 PPMS 1.5 软件进行统计学分析。所有数据均以 ($\bar{x} \pm \text{SD}$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间样本均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PVN orexin 受体表达

免疫组化实验显示 PVN 内有 orexin 受体免疫阳性细胞。

2.2 PVN 注射 orexin-A 对摄食的影响

与生理盐水组相比, PVN 注射 orexin-A 后, 大鼠 0.5h 摄食无明显变化, 从 1h 到 3h 大鼠摄食量显著增加 ($P < 0.05$, 图 2), 而 6h 和 24h 大鼠摄食量无显著变化 ($P > 0.05$, 图 2)。单独注射

[D-Lys-3]-GHRP-6 大鼠摄食量无显著改变($P>0.05$,图 2)。注射 orexin-A 和[D-Lys-3]-GHRP-6 混合液后,orexin-A 对大鼠摄食的促进作用被部分阻断($P<0.05$,图 2)。

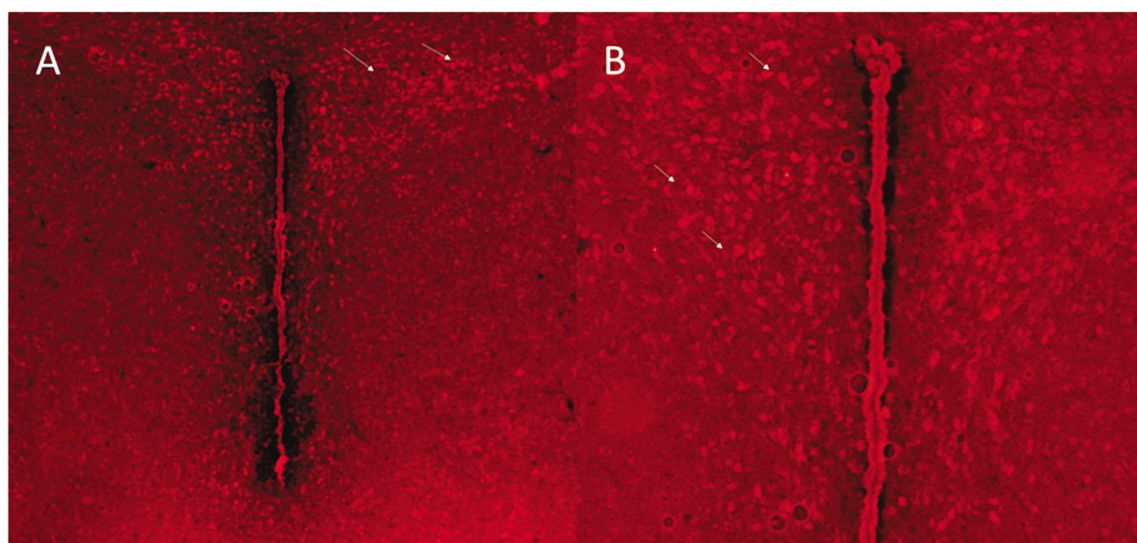


图 1 PVN orexin 受体表达

A:4 倍镜下 B:10 倍镜下

Fig.1 Expression of orexin receptors in PVN

A:4× B:10×

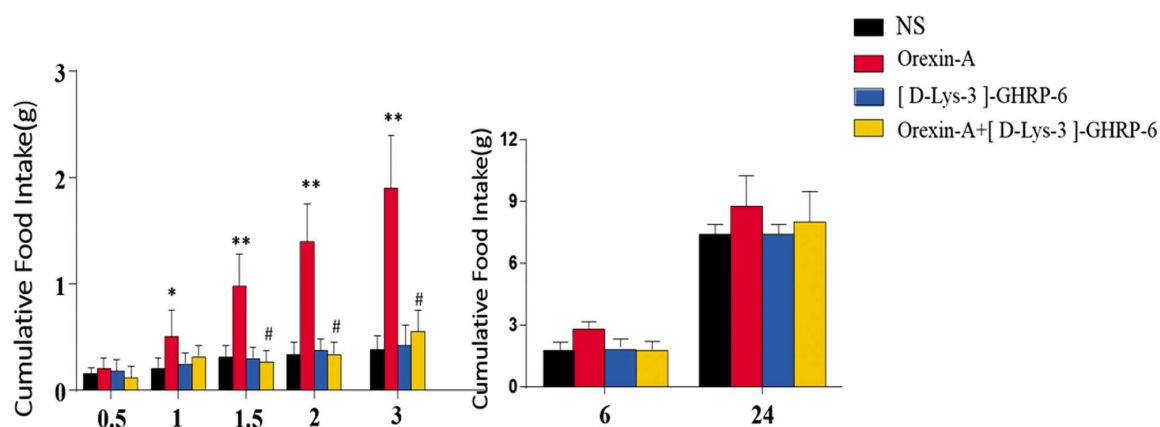


图 2 PVN 微量注射 orexin-A 对摄食的影响

* $P<0.05$, ** $P<0.01$,与生理盐水组比较;# $P<0.05$,与 orexin-A 组比较

Fig.2 Effects of microinjection of orexin-A on food intake in PVN

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs. NS group; # $P<0.05$ vs. orexin-A group

2.3 PVN 注射 orexin-A 对胃运动的影响

与生理盐水组相比,PVN 微量注射 orexin-A 后,大鼠胃运动幅度和频率显著增加($P<0.05$,图 3A 和 B)。胃运动幅度和频率的增加具有 5 min 的潜伏期,并在 10-15 min 内达到峰值。PVN 微量注射 orexin-A 和 SB334867 混合液后,orexin-A 对胃运动的促进作用被完全抑制;PVN 微量注射 orexin-A 和 [D-Lys-3]-GHRP-6 混合液后,orexin-A 对胃运动的促进作用被部分抑制,表明 orexin-A 对胃运动的促进作用可能是通过 ghrelin 信号通路介导的,而 PVN 单独注射[D-Lys-3]-GHRP-6、生理盐水或 SB334867,大鼠胃运动无明显改变($P>0.05$,图 3A 和 B)。

2.4 PVN 注射 orexin-A 对胃酸分泌的影响

为了进一步探讨外源性 orexin-A 在 PVN 对胃酸分泌的影响,实验中向 PVN 内微量注射 orexin-A 后观察大鼠胃酸分泌

情况。结果发现,与生理盐水组相比,PVN 微量注射 orexin-A 后,大鼠胃酸分泌增多($P<0.05$,图 4),[D-Lys-3]-GHRP-6 能够部分阻断 orexin-A 对胃酸分泌的促进作用,SB334867 可完全阻断 orexin-A 对胃酸分泌的促进作用,单独注射[D-Lys-3]-GHRP-6 和 SB334867 大鼠胃酸分泌无显著变化($P>0.05$,图4)。

2.5 PVN 微量注射 orexin-A 对胃排空的影响

为了进一步探讨外源性 orexin-A 在 PVN 对胃排空的影响,实验中向 PVN 内微量注射 orexin-A 后观察大鼠胃排空的改变。结果发现,与生理盐水组相比,PVN 微量注射 orexin-A 后,大鼠胃排空增快($P<0.05$,图 5),[D-Lys-3]-GHRP-6 能够部分阻断 orexin-A 对胃排空的促进作用,SB334867 可完全阻断 orexin-A 对胃排空的促进作用,单独注射[D-Lys-3]-GHRP-6 和 SB334867 大鼠胃排空无显著变化($P>0.05$,图 5)。表明外源性 orexin-A 在 PVN 通过 ghrelin 通路调控胃排空。

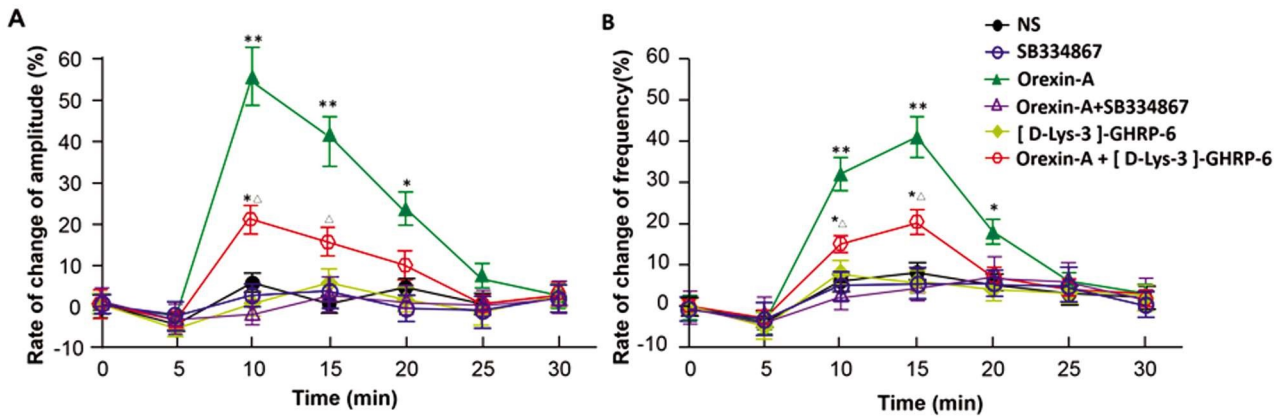


图3 PVN微量注射orexin-A对胃运动的影响

A:胃运动幅度 B:胃运动频率

*P<0.05, **P<0.01,与生理盐水组比较;△ P<0.05,与orexin-A组比较

Fig.3 Effects of microinjection of orexin-A on gastric contraction in PVN

A: The amplitudes of the gastric contraction B: The frequencies of the gastric contraction

*P<0.05, **P<0.01 vs. NS group; △ P<0.05 vs. orexin-A group.

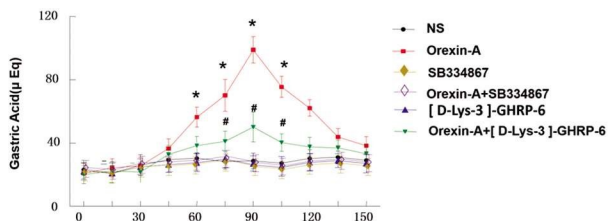


图4 PVN微量注射orexin-A对胃酸分泌影响

*P<0.05,与NS组比较;#P<0.05,与orexin-A组比较

Fig.4 Effects of microinjection of orexin-A in the PVN on the gastric acid secretion

*P<0.05 vs. NS group; #P<0.05 vs. orexin-A group

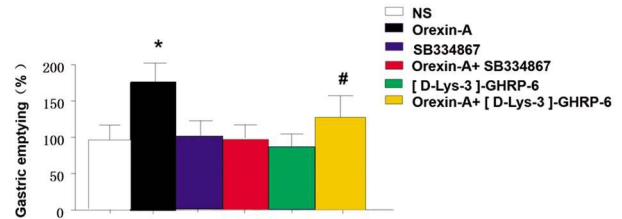


图5 PVN微量注射orexin-A对胃排空影响

*P<0.05,与NS组比较;#P<0.05,与orexin-A组比较

Fig.5 Effects of microinjection of orexin-A in the PVN on the gastric emptying

*P<0.05 vs. NS group; #P<0.05 vs. orexin-A group

3 讨论

下丘脑参与摄食、胃运动及胃酸分泌调控^[25]。食物消化的胃期是复杂的。食物的摄入刺激胃酸分泌和改变胃的运动。胃液的高酸度有助于杀死食物中潜在的有害细菌。胃液的酸性也会激活胃蛋白酶,有助于消化吸收肽类物质。胃底平滑肌起初是松弛的,通过迷走反射在胃近端储存摄入的营养物质,而远端胃"研磨"胃内容物和慢慢的传送到十二指肠,再通过胃肠反射刺激影响胃的功能。大脑中包括 orexin-A 以及 ghrelin 在内的神经递质以及肽类物质均参与 PVN 对摄食的调控。本研究发现 PVN 微量注射 orexin-A 能够促进摄食,促进胃运动,增强胃排空,并促进胃酸分泌。

下丘脑 PVN 紧贴第三脑室,上达下丘脑沟,位于视上核的背、尾侧。室旁核及视上核神经元的轴突组成视上垂体束,止于垂体后叶,与其他多个下丘脑核团间具有神经纤维联系,能够整合外周营养信号,调控摄食以及能量平衡^[26]。由于 PVN 临近正中隆起,所以 PVN 具有收集并且整合中枢神经和外周血液信号的功能。PVN 内有具有内分泌作用的神经元,不但能够分泌促食肽,如 ghrelin、神经肽 Y,还能够表达抑制摄食的 nes-fatin-1 和阿片-促黑素细胞皮质素原。

GHSR 广泛分布在中枢神经系统中,包括下丘脑^[27,28]。以往研究表明中枢和外周注射 ghrelin 均可诱导不同脑核团的 c-fos

表达^[21]。下丘脑核团是调控摄食和能量代谢的重要位点^[21,29,32]。下丘脑室旁核、弓状核以及下丘脑外侧区主要表达 GHSR。以往有研究报道 Ghrelin 和食欲素可能在摄食、行为和表达水平有性别差异^[33,34],这方面的证据表明 orexin-A 通过 ghrelin 通路诱导摄食可能有性别差异,需要进一步的研究来探讨 orexin-A 对 ghrelin 介导的雄性和雌性大鼠不同作用的影响机制。我们电生理实验数据证实了 orexin-A 可以影响与胃运动相关的 PVN 神经元的活性。另一方面,我们的研究表明在清醒大鼠中枢注射 orexin-A 会促进胃排空、胃酸分泌以及胃运动幅度频率,但该作用可以被[D-Lys-3]-GHRP-6 阻断,这表明 orexin-A 诱导作用可能是通过激活 GHSR 实现。然而,[D-Lys-3]-GHRP-6 单独使用既没有影响胃排空和胃酸分泌,也没有影响胃运动,这表明是外源性的 orexin-A,而不是内源性的 orexin-A,参与调节 PVN 对胃运动的调控。有文献报道,禁食大鼠食欲素 mRNA 表达增多,外周或中枢注射 orexin 受体 1 拮抗剂 SB-334867,大鼠摄食量显著减少,表明 SB-334867 可选择性地阻断 orexin-A 的作用从而减少摄食,我们的研究也证实了这一点。orexin-A 可以促进大鼠摄食,且该效应是慢慢增加的,3 小时达到峰值。有趣的是,我们发现大鼠 6 h 和 24 h 累积摄食量没有明显变化,说明 orexin-A 对摄食的促进作用具有时效性。同时,我们也发现 GHSR 受体拮抗剂也可部分阻断 orexin-A 的促摄食作用。

Orexin-A 由于其对摄食以及能量代谢的影响引起了广泛关注。向啮齿动物脑室内或外周静脉注射 orexin-A 后, 啮齿动物的胃运动增强, 并且胃酸分泌增多^[35]。迷走神经复合体(DVC)中的神经反射通路接收来自下丘脑 PVN 和 LH 的信号, 参与调控胃、胰腺的分泌, 并且调控胃肠蠕动。迷走神经是整合消化道信息并传递给中枢神经系统的第十脑神经。迷走神经由传入神经纤维(内脏感觉神经)和传出神经纤维(运动神经)组成, 可调节胃酸分泌, 其中超过 70% 的传入神经纤维由膈下神经纤维分支组成。迷走神经传入神经是双极神经元, 一端投射到孤束核, 另一端投射到各种外周器官。迷走神经传入纤维投射到消化道的周围神经末梢分布于消化道粘膜和粘膜下层, 通过孤束核向中枢神经系统传递如肠肽等信号。通过胃牵张引起的饱餐信号也由迷走神经传递。有研究显示脑池内注射 orexin-A 能够刺激清醒大鼠胃酸分泌, 表明 Orexin-A 的这种生理作用主要是通过作用于迷走神经末梢处的 orexin-A 受体产生的。Orexin-A 还能够促进胃排空以及胃肠道蠕动, 在腹部手术后胃运动减弱时有可能作为胃动力药物在临床引用。在本研究中, 我们发现中枢注射 orexin 受体拮抗剂 SB334867 可阻断 orexin-A 对胃运动、胃排空及胃酸的促进作用。这也与前人的研究相似。以往研究显示 SB334867 可完全性的阻断 orexin-A 的促胃酸分泌、胃排空及胃运动作用, 说明 SB334867 可完全阻断 orexin-A 受体的作用, 我们在注射 orexin-A 后, 又注射 GHSR 受体拮抗剂, orexin-A 的促胃酸分泌作用减弱了, 提示 orexin-A 既可作用于 orexin-A 受体, 同时可能作用于 GHSR 受体, orexin-A 与 ghrelin 之间存在通路。

综上所述, 外源性 orexin-A 在 PVN 可能通过 GHSR 受体信号途径调控胃功能, 具体通路机制有待于进一步阐明。PVN 中存在 orexin 受体, 外源性 orexin-A 可促进大鼠摄食、胃运动、胃排空及胃酸分泌。在未来的研究中, 我们将进一步研究外源性 orexin-A 在其他核团对摄食及能量代谢的影响及机制。

参考文献(References)

- [1] Jöhren O. Orexins/hypocretins and sex[J]. *Peptides*, 2018, 99: 115-116
- [2] Boss C, Roch C. Orexin resePVN: patent news from 2016[J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2017, 27(10): 1123-1133
- [3] Modirrousta M, Mainville L, Jones BE. Orexin and MCH neurons express c-Fos differently after sleep deprivation vs.recovery and bear different adrenergic receptors [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 21 (10): 2807-2816
- [4] Goforth PB, Myers MG. Roles for Orexin/Hypocretin in the Control of Energy Balance and Metabolism[J]. *Curr Top Behav Neurosci*, 2017, 33: 137-156
- [5] Blais A, Drouin G, Chaumontet C, et al. Impact of Orexin-A Treatment on Food Intake, Energy Metabolism and Body Weight in Mice [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0169908
- [6] Edwards CM, Abusnana S, Sunter D, et al. The effect of the orexins on food intake: comparison with neuropeptide Y, melanin-concentrating hormone and galanin[J]. *J Endocrinol*, 2013, 160: R7-R12
- [7] Sweet D C, Levine A S, Billington C J, et al. Feeding response to central orexins[J]. *Brain Res*, 2013, 821: 535-538
- [8] Peng XY, Guo FF, Sun XR, et al. Effect of orexin-A and orexin-1 receptor antagonist injected into the fourth ventricle of rats on food-intake and spontaneous physical activity [J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2015, 67(4): 379-385
- [9] Terrill SJ, Hyde KM, Kay KE, et al. Ventral tegmental area orexin 1 receptors promote palatable food intake and oppose postingestive negative feedback[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2016, 311(3): R592-R599
- [10] Choi DL, Davis JF, Fitzgerald ME, et al. The role of orexin-A in food motivation, reward-based feeding behavior and food-induced neuronal activation in rats[J]. *Neuroscience*, 2010, 167: 11-20
- [11] Clegg DJ, Air EL, Woods SC, et al. Eating elicited by orexin-a, but not melanin-concentrating hormone, is opioid mediated [J]. *Endocrinology*, 2002, 143: 2995-3000
- [12] Cason A M, Aston-Jones G. Role of orexin/hypocretin in conditioned sucrose-seeking in female rats [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 86: 97-102
- [13] Jupp B, Krivdic B, Krstew E, et al. The orexin? receptor antagonist SB-334867 dissociates the motivational properties of alcohol and sucrose in rats[J]. *Brain Res*, 2011, 1391: 54-59
- [14] Richards JK, Simms JA, Steensland PT, et al. Inhibition of orexin-1/hypocretin-1 receptors inhibits yohimbine-induced reinstatement of ethanol and sucrose seeking in Long-Evans rats[J]. *Psychopharmacology*, 2008, 199: 109-117
- [15] Matsuo E, Mochizuki A, Nakayama K, et al. Decreased intake of sucrose solutions in orexin knockout mice[J]. *J Mol Neurosci*, 2011, 43: 217-224
- [16] Poher AL, Tschöp MH, Müller TD. Ghrelin regulation of glucose metabolism[J]. *Peptides*, 2018, 100: 236-242
- [17] Morin V, Hozer F, Costemale-Lacoste JF. The effects of ghrelin on sleep, appetite, and memory, and its possible role in depression: A review of the literature[J]. *Encephale*, 2018, 10: 150-155
- [18] Wren AM, Small CJ, Ward HL, et al. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion[J]. *Endocrinology*, 2000, 141: 4325-4328
- [19] Cowley MA, Smith RG, Diano S, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis[J]. *Neuron*, 2003, 37: 649-661
- [20] Hashimoto H, Otsubo H, Fujihara H, et al. Centrally administered ghrelin potently inhibits water intake induced by angiotensin II and hypovolemia in rats[J]. *J Physiol Sci*, 2009, 60: 19-25
- [21] Fernandez G, Cabral A, Cornejo MP, et al. Des-Acyl Ghrelin Directly Targets the Arcuate Nucleus in a Ghrelin-Receptor Independent Manner and Impairs the Orexigenic Effect of Ghrelin [J]. *J Neuroendocrinol*, 2016, 28(2): 12349
- [22] Toshinai K, Date Y, Murakami N, et al. Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway [J]. *Endocrinology*, 2013, 144: 1506-1512
- [23] Bernardis LL, Bellinger LL. The lateral hypothalamic area revisited: neuroanatomy, bodyweight regulation, neuroendocrinology and metabolism[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1993, 17: 141-193
- [24] Berthoud HR, Münzberg H. The lateral hypothalamus as integrator of metabolic and environmental needs: from electrical self-stimulation to opto-genetics[J]. *Physiol Behav*, 2011, 104: 29-39

- VEGF-Notch signaling circuit drives formation of functional vascular endothelial progenitors from human pluripotent stem cells [J]. Cell Research, 2014, 24(7): 820-841
- [14] Ajioka I, Akaike T, Yoshifumi W P D. Expression of vascular endothelial growth factor promotes colonization, vascularization, and growth of transplanted hepatic tissues in the mouse [J]. Hepatology, 1999, 29(2): 396-402
- [15] Astiz M E, Rackow E C, Still J G, et al. Pretreatment of normal humans with monophosphoryl lipid A induces tolerance to endotoxin: a prospective, double-blind, randomized, controlled trial [J]. Critical Care Medicine, 1995, 23(1): 9-17
- [16] Paoletti F, Aldinucci D, Mocali A, et al. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts[J]. Analytical Biochemistry, 1986, 154(2): 536
- [17] Takada K, Ito Y, Sato T, et al. Study on the effect of basic fibroblast growth factor (bfgf) loaded microneedle array chip on reducing scar formation[J]. Wound Repair & Regeneration, 2014, 22(1): A2-A2
- [18] 崔琳,张贵锋,刘涛,等.液相色谱 / 质谱联用法分析不同年龄鼠皮肤中 I 型、III 型胶原蛋白相对含量[J]. 中国生物工程杂志, 2007, 27(4): 71-76
- Cui Lin, Zhang Gui-feng, Liu Tao, et al. High Performance Chromatography/Mass Spectrometric Analysis of the Collagen I /III Ratio in Rat Skin at Different Stages of Growth [J]. China Biotechnology, 2007, 27(4): 71-76
- [19] 黄群华. 血小板源生长因子及其受体在低氧性肺血管平滑肌细胞增殖中的调节作用及其分子机制探讨 [D]. 中国协和医科大学, 1999
- Huang Qun-hua. Regulatory effect of platelet-derived growth factor and its receptor on proliferation of hypoxic pulmonary vascular smooth muscle cells and its molecular mechanism [D]. China Union Medical College, 1999
- [20] Zohny S, Wood E J. Investigation of cell proliferation and cell signalling pathways in response to PDGF-AB in human fibroblasts cultured in a dermal equivalent [J]. Journal of Dermatological Science, 1998, 16(4): 625-625
- [21] Zhang L, Yang F, Li Q, et al. AcSDKP inhibits the proliferation and collagen expression of cardiac fibroblasts induced by PDGF through blocking the ERK1/2 and JNK pathway activation [C]. International Conference on Human Health and Biomedical Engineering [J]. IEEE, 2011: 916-919
- [22] Paspala S A, Balaji A B, Nyamath P, et al. Neural stem cells & supporting cells--the new therapeutic tools for the treatment of spinal cord injury [J]. Indian Journal of Medical Research, 2009, 130(4): 379-381
- [23] 李丹. 创面愈合中 SDF-1 的表达对表皮干细胞迁移作用的机制研究[D]. 第三军医大学, 2007
- Li Dan. Study on the mechanism of SDF - 1 expression on epidermal stem cell migration in wound healing [D]. The Third Military Medical University, 2007
- [24] Zhao X K, Liang Z Q, Zhang X F. Mature epidermal cells dedifferentiate towards epidermal stem cells [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2011, 15(49): 9295-9298
- [25] Sun T J, Tao R, Han Y Q, et al. Wnt3a promotes human umbilical cord mesenchymal stem cells to differentiate into epidermal-like cells [J]. European Review for Medical & Pharmacological Sciences, 2015, 19(1): 86-87
- (上接第 2651 页)
- [25] Anand BK, Brobeck JR. Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1951, 77: 323-324
- [26] Jiang Z, Rajamanickam S, Justice NJ. Local Corticotropin-Releasing Factor Signaling in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus [J]. J Neurosci, 2018, 38(8): 1874-1890
- [27] Guan XM, Yu H, Palyha OC, et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1997, 48: 23-29
- [28] Mitchell V, Bouret S, Beauvillain JC, et al. Comparative distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue-receptor (GHS-R) in Microcebus murinus (Primate, lemurian) and rat fore-brain and pituitary[J]. J Comp Neurol, 2001, 429: 469-489
- [29] Yoshimura M, Uezono Y, Ueta Y. Anorexia in human and experimental animal models: physiological aspects related to neuropeptides [J]. J Physiol Sci, 2015, 65: 385-395
- [30] Yoshimura M, Hagimoto M, Matsuura T, et al. Effects of food deprivation on the hypothalamic feeding-regulating peptides gene expressions in serotonin depleted rats[J]. J Physiol, 2014, 64(2): 97-104
- [31] Bonnavion P, Mickelsen LE, Fujita A, et al. Hubs and spokes of the lateral hypothalamus: cell types, circuits and behavior [J]. J Physiol, 2016, 594(22): 6443-6462
- [32] Waterson MJ, Horvath TL. Neuronal regulation of energy homeostasis: beyond the hypothalamus and feeding [J]. Cell Metab, 2015, 22: 962-970
- [33] Yamada C, Saegusa Y, Nahata M, et al. Influence of aging and gender differences on feeding behavior and ghrelin-related factors during social isolation in mice[J]. PLoS One, 2015, 10: e0140094
- [34] Iwasa T, Matsuzaki T, Munkhzaya M, et al. Developmental changes in the hypothalamic mRNA levels of prepro-orexin and orexin receptors and their sensitivity to fasting in male and female rats [J]. Int J Dev Neurosci, 2015, 46: 51-54
- [35] Burdya G, Lal S, Spiller D, et al. Localization of orexin-1 receptors to vagal afferent neurons in the rat and humans [J]. Gastroenterology, 2013, 124: 129-139