

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.32.011

Nesfatin-1 对卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞胃酸分泌的影响及其机制研究*

谢碧云 李学良[△] 周小平 黄琳 林琳

(南京医科大学第一附属医院 江苏 南京 210029)

摘要 目的:探讨 Nesfatin-1 对卡巴胆碱诱导的离体大鼠胃粘膜细胞胃酸分泌的影响及其机制。方法:采用酶解法分离原代 SD 大鼠胃粘膜细胞。Nesfatin-1(10^{-1} $\mu\text{mol/L}$)作用大鼠胃粘膜细胞不同时间以及不同浓度 Nesfatin-1(10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} $\mu\text{mol/L}$)作用大鼠胃粘膜细胞 0.5 h 后,通过 ^{14}C -氨基比林(^{14}C -Aminopyrine, ^{14}C -AP)法检测其对卡巴胆碱($100\mu\text{mol/L}$)诱导的大鼠胃粘膜细胞胃酸分泌的影响。将 Nesfatin-1($10^{-1}\mu\text{mol/L}$)与卡巴胆碱($100\mu\text{mol/L}$)共孵育大鼠胃粘膜细胞 0.5 h 后,通过透射电镜观察胃壁细胞超微结构的变化。结果:Nesfatin-1($10^{-1}\mu\text{mol/L}$)作用于大鼠胃粘膜细胞 0.5 h、1.0 h 及 10^{-1} 、 10^{-2} 、 $10^{-3}\mu\text{mol/L}$ Nesfatin-1 作用于大鼠胃粘膜细胞 0.5 h 均可明显降低卡巴胆碱诱导的 ^{14}C -AP 摄取量,与卡巴胆碱组相比,差异有统计学意义($P<0.05$);Nesfatin-1 可影响卡巴胆碱诱导的大鼠胃壁细胞的超微结构,抑制其从静息态向分泌态转化。结论:Nesfatin-1 可能通过影响胃壁细胞超微结构变化抑制卡巴胆碱诱导的 SD 大鼠胃粘膜细胞的胃酸分泌。

关键词: Nesfatin-1;卡巴胆碱;胃酸; ^{14}C -AP

中图分类号: Q95-3;R573 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)32-6246-04

Effects and Mechanisms of Nesfatin-1 on Carbachol-induced Gastric Acid Secretion in Isolated Rat Gastric Mucosal Cells*

XIE Bi-yun, LI Xue-liang[△], ZHOU Xiao-ping, HUANG Lin, LIN Lin

(Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210029, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects and mechanisms of Nesfatin-1 on carbachol-stimulated gastric acid secretion in isolated rat gastric mucosal cells. **Methods:** Gastric mucosal cells of SD rats were isolated by enzymatically dispersion and treated by Nesfatin-1 ($10^{-1}\mu\text{mol/L}$) for different time or Nesfatin-1 (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , $10^{-4}\mu\text{mol/L}$) for 0.5 h. Then ^{14}C -Aminopyrine (^{14}C -AP) accumulation was gauged as a measure of acid secretion to detect Nesfatin-1 on carbachol-induced gastric acid secretion in isolated rat gastric mucosal cells. Subsequently, the rat gastric mucosal cells were coincubated with Nesfatin-1 ($10^{-1}\mu\text{mol/L}$) and carbachol($100\mu\text{mol/L}$) for 0.5 h, transmission electron microscopy was used to observe the changes of parietal cells ultrastructure. **Results:** The carbachol-induced ^{14}C -AP accumulation in isolated rat gastric mucosal cells were significantly inhibited by Nesfatin-1 ($10^{-1}\mu\text{mol/L}$) for 0.5 h and 1 h or Nesfatin-1(10^{-1} , 10^{-2} , $10^{-3}\mu\text{mol/L}$) for 0.5 h($P<0.05$). Electronic microscope results showed that parietal cells transformed from resting to stimulated states in response to extracellular stimulation by carbachol ($100\mu\text{mol/L}$), which was inhibited by Nesfatin-1 ($10^{-1}\mu\text{mol/L}$). **Conclusion:** Nesfatin-1 could inhibit carbachol-induced gastric acid secretion in isolated rat gastric mucosal cells at least partly through influencing the ultrastructure of parietal cells.

Key words: Nesfatin-1; Carbachol; Gastric acid; ^{14}C -AP

Chinese Library Classification: R322.61 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)32-6246-04

前言

Nesfatin-1 是由日本学者 Oh-I S 于 2006 年新发现的一种

位于中枢的摄食抑制因子,其前体为核组蛋白 2(nucleobindin 2, NUCB2)^[1],在大鼠、小鼠、人类中高度同源,可通过非依赖于瘦素途径发挥厌食作用^[2]。但近期基于 SD 大鼠的研究结果提

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81070308/H0308)

作者简介:谢碧云(1988-),女,硕士研究生,主要从事消化科酸分泌及胃肠动力方向的研究,

电话:0571-63592265, E-mail: angisxie@163.com

[△] 通讯作者:李学良, E-mail: ligakur@aliyun.com

(收稿日期:2014-04-19 接受日期:2014-05-15)

示 Nesfatin-1 具有中枢抑酸作用,注射 Nesfatin-1 至侧脑室可降低基础胃酸分泌^[4];注射 Nesfatin-1 至第四脑室可明显抑制 2-脱氧-D-葡萄糖刺激下的胃酸分泌^[3]。进一步的研究发现 Nesfatin-1 在部分外周组织中的表达呈阳性,包括睾丸、脂肪组织、胰腺的胰岛细胞^[5]及胃粘膜腺中的内分泌细胞^[6,7]等。此外, Nesfatin-1 与 ghrelin、生长抑素(somatostatin, SST)和组氨酸脱羧酶(histidine decarboxylase, HDC)分别共表达于胃泌酸腺中的 X/A 样细胞、D 细胞及肠嗜铬样细胞(enterochromaffin-like cell, ECL)细胞中,提示 Nesfatin-1 可能参与外周胃酸分泌的调节。我们前期的研究结果亦显示 Nesfatin-1 可降低离体培养的 SD 大鼠胃粘膜细胞的基础胃酸分泌,并可通过改变胃壁细胞的超微结构,抑制组胺诱导下的胃酸分泌^[8]。胆碱酯类物质是另一种主要的刺激胃酸分泌的因子,本研究旨在探讨 Nesfatin-1 是否可降低卡巴胆碱作用下的离体培养的大鼠胃粘膜细胞的胃酸分泌,以及其作用是否与影响胃壁细胞超微结构的形成有关。

1 材料与方法

1.1 材料

体重 200 g 左右的 SD 雄性大鼠,有实验动物合格证明,购于南京医科大学实验动物中心;Nesfatin-1 购于 ENZO 公司;卡巴胆碱购于 Sigma 公司;¹⁴C-AP 购自 PerkinElmer 公司;链蛋白酶购于 Roche 公司;胎牛血清、DMEM/F12、青链霉素溶液(双抗)购自 Gibco 公司;四氧化锇购于西亚试剂公司;EPON812 包埋剂购于 Sigma 公司;戊二醛、丙酮、乙醇购于上海振兴化工厂。

1.2 方法

1.2.1 SD 大鼠胃粘膜细胞的分离^[9]及培养 分离原代 SD 大鼠胃粘膜细胞所需缓冲液 Medium A (MA, pH 7.8):70 mmol/L NaCl, 20 mmol/L KCl, 0.5 mmol/L NaH₂PO₄, 1 mmol/L Na₂HPO₄, 20 mmol/L NaHCO₃, 11 mmol/L D (+)-glucose, 350 μmol/L EDTA, 50 mmol/L HEPES, 可促使粘膜侧的消化酶向浆膜侧渗透; Medium B (MB, pH 7.4):MA 液中去掉 EDTA 后,再加入 15 mmol/L MgSO₄ 及 10 mmol/L CaCl₂, 可促使脱落的粘膜层细胞处于更接近生理状态的环境下; Medium C(MC, pH 7.4):140 mmol/L NaCl, 1.2 mmol/L MgSO₄, 1 mmol/L CaCl₂, 10 mmol/L HEPES, 11 mmol/L glucose, 100 mg/L DTT, 0.5 g/L BSA, 可帮助呈团块样聚集的细胞充分的离散;链霉蛋白酶溶液:10 mg/mL, 用 MA 液配制。SD 大鼠胃粘膜细胞的分离及培养:取 200 g 左右非禁食 SD 雄性大鼠 2-4 只,脱颈处死后打开腹腔,将贲门及幽门结扎后的胃囊置于冰 PBS 内;在胃底作一小切口,将胃内容物排清后,将胃翻转(粘膜层在外)并用冰 PBS 清洗 2-3 遍,1.5-2 mL 链霉蛋白酶溶液注射至浆膜层(切忌将高浓度的酶接触到胃粘膜层细胞,以免细胞受损),并结扎胃底切口;结扎胃囊放入 MA 液中,37℃ 水浴消化 30 min,再放入 MB 液中水浴震荡 10 min,如上消化步骤需重复一次。收集 MB 液,离心 5 min, 1500 rpm; MC 液吹打洗涤细胞沉淀 2 次,每次离心 5 min, 1500 rpm;最后用 DMEM/F12 培养基制成细胞悬液,接种至鼠尾胶原包被的培养皿上。

1.2.2 ¹⁴C-AP 法^[10]测胃粘膜细胞胃酸分泌 直接将分离好的细

胞悬液接种至六孔板上,培养 48-72 h,每孔约 3×10^5 个细胞。实验组、空白对照组及卡巴胆碱组加入 ¹⁴C-AP, 终浓度为 0.5 μCi/ml; DNP 组加入二硝基苯酚(DNP),终浓度为 0.1 mmol/L。充分混匀,37℃ 孵箱平衡 15 min, 加入冰 PBS, 反应终止,1% Triton X-100 充分裂解细胞。吸取上清,加入闪烁液过夜,计算液闪记数,结果以 CPM(counts per minute)表示。¹⁴C-AP 相对摄取量 = (实验组 CPM 值 - DNP 组 CPM 值) / (对照组 CPM 值 - DNP 组 CPM 值)。

1.2.3 电镜观察胃壁细胞超微结构 将培养的细胞随机分为空白对照组、卡巴胆碱组、Nesfatin-1(10^{-1} μmol/L)+卡巴胆碱组。处理后的细胞用冰 PBS 清洗后迅速刮下,4℃ 离心 10 min, 3 000 rpm。加入适量 2.5-3%戊二醛固定液,4℃ 冰箱固定过夜,1%四氧化锇室温固定 2 h,用一系列丙酮在室温下脱水。加入纯丙酮-EPON812 包埋剂(1:1 体积比)室温下放置 1.5 h,加入纯包埋剂纯丙酮-EPON812 包埋剂(1:2 体积比),室温下放置过夜,将细胞团块包埋后 37℃ 过夜→45℃, 12 h→60℃, 24 h→37℃ 干燥器内保存。超薄切片机切片后用醋酸铅染色液及柠檬酸铅进行电子双染,片染后晾干,用 JEOL-1010 电镜观察壁细胞的超微结构。

1.3 统计学分析

SPSS17.0 统计软件进行分析,一次试验细胞来自同一批次,所有试验重复三次,结果用 $\bar{x} \pm SD$ 表示,多组均数比较采用单因素方差分析,两组均数比较用 SNK-q 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SD 大鼠离体胃粘膜细胞的培养

原代细胞经酶解法分离后,见锥虫蓝鉴定活细胞数 >90%。培养 24 h 后,可见细胞贴壁生长。

2.2 Nesfatin-1 对卡巴胆碱诱导的胃粘膜细胞胃酸分泌的影响

卡巴胆碱(100 μmol/L)孵育离体培养的大鼠胃粘膜细胞 0.5 h、1 h、1.5 h 后,¹⁴C-AP 相对摄取量分别为 1.81 ± 0.14 、 1.45 ± 0.07 、 1.22 ± 0.99 ,与相同时间空白对照组相比,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05);加入 10^{-1} μmol/L Nesfatin-1 与卡巴胆碱(100 μmol/L)共孵育后 0.5 h、1 h 后,¹⁴C-AP 的相对摄取量分别为 1.09 ± 0.11 、 1.08 ± 0.37 ,与相应卡巴胆碱组相比有明显抑制作用,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05);而 10^{-1} μmol/L Nesfatin-1 与卡巴胆碱共孵育 2 h 后,¹⁴C-AP 相对摄取量为 0.79 ± 0.02 ,与相同处理时间的空白对照组与卡巴胆碱组相比皆有统计学差异(P 均 < 0.05 ,图 1A)。

检测不同浓度 Nesfatin-1 对卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞胃酸分泌的影响时,发现孵育 0.5 h 后,浓度为 100 μmol/L 的卡巴胆碱能够诱导大鼠胃粘膜细胞的胃酸分泌,¹⁴C-AP 相对摄取量为 2.06 ± 0.15 ,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。 10^{-3} 、 10^{-2} 及 10^{-1} μmol/L 的 Nesfatin-1 能够抑制卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞的胃酸分泌,¹⁴C-AP 相对摄取量分别为 1.14 ± 0.07 、 1.01 ± 0.15 、 0.96 ± 0.03 ,与卡巴胆碱组相比,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05); 10^{-4} μmol/L 的 Nesfatin-1(相对摄取量为 1.84 ± 0.11)对卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞的胃酸分泌无明显抑制作用($P > 0.05$,图 1B)。

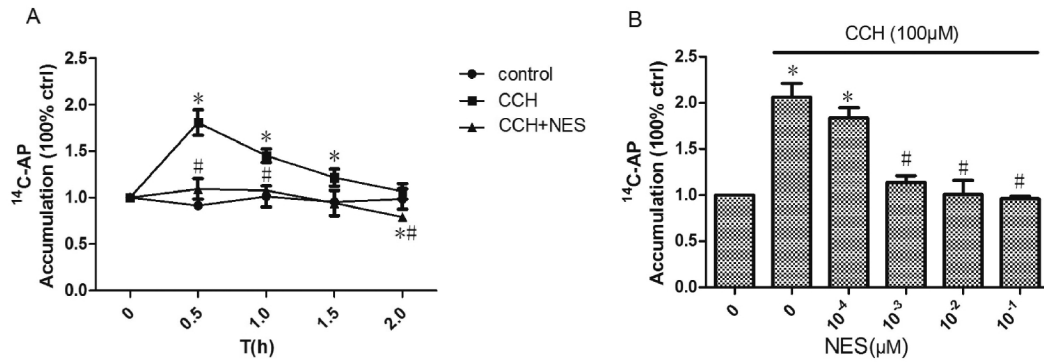


图1 Nesfatin-1对卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞胃酸分泌的影响

Fig. 1 Effects of Nesfatin-1 on the gastric acid secretion in rat gastric parietal cells induced by carbachol

注: A: Nesfatin-1 ($10^{-1} \mu\text{mol/L}$) 作用不同时间对卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞胃酸分泌的影响; B: 不同浓度 Nesfatin-1 (10^{-4} 、 10^{-3} 、 10^{-2} 、 $10^{-1} \mu\text{mol/L}$) 作用 0.5 h 对卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞胃酸分泌的影响; *P<0.05 VS 对照组; #P<0.05 VS CCH 组 (NES: nesfatin-1; CCH: 卡巴胆碱)

Note: A: The effect of different treatment period of Nesfatin-1 ($10^{-1} \mu\text{mol/L}$) on the carbachol-stimulated acid secretion in rat gastric parietal cells;

B: The effect of different concentrations of Nesfatin-1 (10^{-4} 、 10^{-3} 、 10^{-2} 、 $10^{-1} \mu\text{mol/L}$) on carbachol-stimulated acid secretion for 0.5 h in rat gastric parietal cells;

*P<0.05 VS control group; #P<0.05 VS CCH group (NES: Nesfatin-1; CCH: carbachol)

2.2 Nesfatin-1 对卡巴胆碱诱导的大鼠胃黏膜壁细胞超微结构的影响

空白对照组为静息状态下的大鼠胃壁细胞, 胞内可见大量的线粒体及管状囊泡, 顶端膜分泌小管数量减少, 表面上微绒毛短小、稀少(图 2A-B)。卡巴胆碱($100 \mu\text{mol/L}$)作用后, 明显可

见分泌小管上的微绒毛数量增加, 体积膨胀, 胞内管状囊泡数量减少(图 2C-D)。将卡巴胆碱及 Nesfatin-1 ($10^{-1} \mu\text{mol/L}$) 共孵育, 与对照组相比, 可见分泌小管上的微绒毛扩张及增生, 胞内管状囊泡数量减少, 但微绒毛的扩张及增生及管状囊泡的减少没有卡巴胆碱组明显(图 2E-F)。

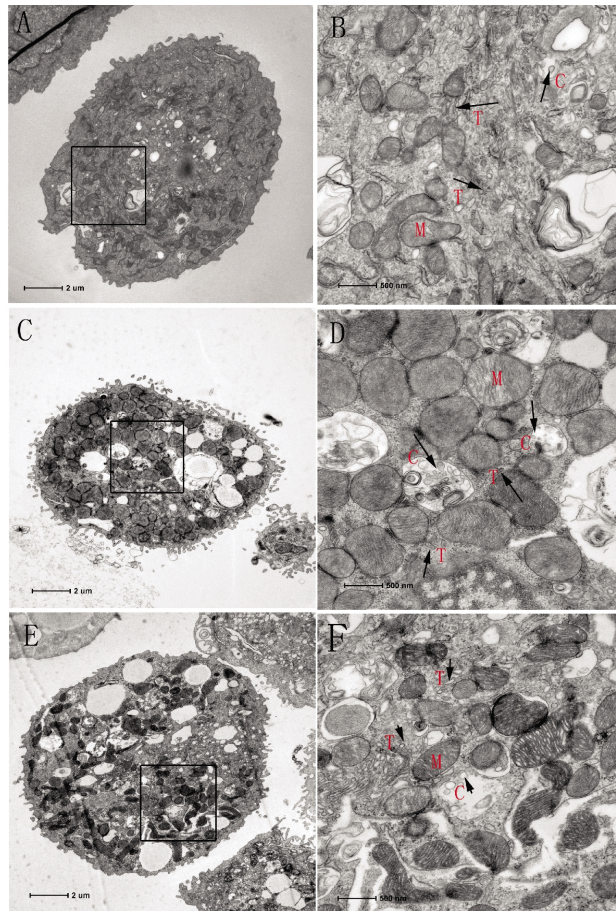


图2 Nesfatin-1对卡巴胆碱诱导的胃壁细胞超微结构的影响

Fig. 2 Effect of Nesfatin-1 on the ultrastructure of parietal cell induced by carbachol

注: A-B: 静息状态下的大鼠胃壁细胞; C-D: 卡巴胆碱诱导的大鼠胃壁细胞; E-F: Nesfatin-1 与卡巴胆碱共同处理的大鼠胃壁细胞 (M: 线粒体; T: 管状囊泡; C: 分泌小管)。

Note: A-B: Parietal cell in a resting state; C-D: Parietal cell induced by carbachol; E-F: Parietal cell induced by Nesfatin-1 and carbachol (M: mitochondria T: tubulovesicles C: canaliculi).

3 讨论

胃酸分泌的调节是通过神经、内分泌、旁分泌等途径之间高度协调的相互作用而实现的^[11-13],最终使组胺(ECL 细胞分泌)、胃泌素(G 细胞分泌)及乙酰胆碱(节后胆碱能神经元释放)分别与壁细胞膜上的 H_2 受体、 CKK_2 受体及 M_3 受体结合,进一步激活胃壁细胞内的第二信使。其中,胆碱酯类物质,如乙酰胆碱、卡巴胆碱等,可结合至壁细胞膜上的 G 蛋白,激活磷脂酶 C β (β isoform of phospholipase C, PLC β),此酶可催化磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP₂)的水解,产生三磷酸肌醇(inositol-1,4,5-trisphosphate, IP₃)和二酰基甘油(diacylglycerol, DAG)。IP₃ 作为第二信使,可增加细胞内 Ca^{2+} 浓度。 Ca^{2+} 和 DAG 水平的提高可激活钙离子依赖性 DAG 依赖性的蛋白激酶 PKC。这种信号通路最终可调节一系列结构分子蛋白,使壁细胞超微结构发生改变,促使富含质子泵的管状囊泡被激活、移动并嵌入融合至壁细胞的分泌小管膜(质子泵最终发挥作用的地点),泵出 H^+ 与 K^+ 交换^[14],完成泌酸过程。本研究的结果显示,Nesfatin-1 可明显抑制卡巴胆碱诱导的胃酸分泌,但当卡巴胆碱单独孵育胃粘膜细胞 2 h 后,¹⁴C-AP 实验结果显示其泌酸作用消失,故当 Nesfatin-1 与卡巴胆碱共孵育 2 h 时,虽其 ¹⁴C-AP 相对摄取率与卡巴胆碱组相比,差异有统计学意义,但是并不能说明 Nesfatin-1 在此时间点抑制了卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞的泌酸作用。

胃壁细胞可利用其特殊的膜回收系统调节胃酸分泌^[14,15],其主要由两部分质膜组成:顶端膜向细胞内陷形成的分泌小管,表面富含微绒毛,是质子泵发挥作用的最终场所;及由胞内囊泡状膜性结构及光面内质网组成的管状囊泡,内含大量的非活性状态的 H^+/K^+ -ATP 酶。当胃壁细胞处于静息状态时,胞内可见大量延线粒体分布的管状囊泡,少量顶端膜延伸进入细胞内,分泌小管萎缩,表面可见短小、稀少的微绒毛;当壁细胞受到泌酸因子如卡巴胆碱的刺激后,可激活 PKC 通路,通过调节一系列结构蛋白分子,促使含有 H^+/K^+ -ATP 酶的管状囊泡向顶端膜移动,并与顶端分泌膜融合,分泌小管数量增加,微绒毛增生、扩张,顶端膜表面分泌胃酸。本研究的结果显示,Nesfatin-1 可影响卡巴胆碱诱导的胃壁细胞的超微结构,抑制其从静息态向分泌相转变,提示 Nesfatin-1 可能通过如上改变抑制了卡巴胆碱诱导的胃酸分泌。但此过程的具体分子机制仍需进一步研究。

近年来,关于 Nesfatin-1 在中枢及外周作用的研究进展迅速。除了在摄食及代谢方面的研究外,近期还发现中枢 Nesfatin-1 可能通过激活负责调节高血压的神经通路,参与高血压的调节^[16];可能通过 ERK1/2 和 cGMP/PKG 通路,对心脏的缺血/再灌注损伤发挥保护作用^[17]等。本课题组前期及目前的研究结果显示,Nesfatin-1 具有中枢及外周抑酸作用,其可能对胃粘膜具有一定的保护功效。但目前尚缺乏有力的证据证明 Nesfatin-1 受体的具体结构、组成。由于 Nesfatin-1 受体拮抗剂的缺乏,故目前尚不能证明 Nesfatin-1 受体的具体分布,其调节泌酸的过程可能存在多个靶点。

综上所述,Nesfatin-1 可能通过影响胃壁细胞的超微结构抑制卡巴胆碱诱导的大鼠胃粘膜细胞的胃酸分泌。但是目前尚缺乏 Nesfatin-1 受体的具体信息,其抑酸过程中的靶细胞尚不能明确,具体分子机制有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, et al. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus [J]. *Nature*, 2006, 443(7112): 709-712
- [2] 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
- [3] Xia ZF, Fritze DM, Li JY, et al. Nesfatin-1 inhibits gastric acid secretion via a central vagal mechanism in rats [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 303(5): 570-577
- [4] 吴静, 贾方圆, 谢碧云, 等. 侧脑室注射 nesfatin-1 抑制大鼠胃酸分泌 [J]. *基础医学与临床*, 2013, 33(5): 552-556
- [5] Wu Jing, Jia Fang-yuan, Xie Bi-yun, et al. Nesfatin-1 suppresses gastric acid secretion in rat [J]. *Basic & Clinical Medicine*, 2013, 33(5): 552-556
- [5] Mohan H, Unniappan S. Ontogenic pattern of nucleobindin-2/nesfatin-1 expression in the gastroenteropancreatic tissues and serum of Sprague Dawley rats[J]. *Regulatory Peptides*, 2012, 175(1-3): 61-69
- [6] 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
- [7] AQ Zhang, XL Li, CY Jiang, et al. Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(14): 1735-1741
- [8] 李静慧. Nesfatin-1 对大鼠胃粘膜细胞胃酸分泌的影响及机理研究 [D]. 南京医科大学, 2012
- [9] Li Jing-hui. The effect of nesfatin-1 on gastric acid in rat gastric mucosa cells and the mechanism [D]. Nanjing Medical University, 2012
- [9] Lambrecht NW, Yakubov I, Scott D, et al. Identification of the K efflux channel coupled to the gastric H-K-ATPase during acid secretion[J]. *Physiol Genomics*, 2005, 21(1): 81-89
- [10] Romell B, Girma K, Seensalu R, et al. Effects of carbachol and gastrin on ¹⁴C-aminopyrine accumulated in rabbit gastric glands and cells[J]. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1993, 28(6): 545-550
- [11] Schubert ML, Peura DA. Control of Gastric Acid Secretion in Health and Disease[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(7): 1842-1860
- [12] Seidler U, Song P, Xiao F, et al. Recent advances in the molecular and functional characterization of acid/base and electrolyte transporters in the basolateral membranes of gastric and duodenal epithelial cells[J]. *Acta Physiol*, 2011, 201(1): 3-20
- [13] Chu S, Schubert ML. Gastric secretion. *Curr Opin Gastroenterol* [J]. 2013, 29(6): 636-641
- [14] Forte JG, Zhu L. Apical recycling of the gastric parietal cell H, K-ATPase[J]. *Annu Rev Physiol*, 2010, 72: 273-296
- [15] Forte TM, Machen TE, Forte JG. Ultrastructural changes in oxyntic cells associated with secretory function: a membrane-recycling hypothesis[J]. *Gastroenterology*, 1977, 73(4 pt 2): 941-955
- [16] Yosten GL, Samson WK. Neural circuitry underlying the central hypertensive action of nesfatin-1: melanocortins, corticotropin releasing hormone and oxytocin [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2014, 306(10): 722-727
- [17] Angelone T, Filice E, Pasqua T, et al. Nesfatin-1 as a novel cardiac peptide: identification, functional characterization, and protection against ischemia/reperfusion injury[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(3): 495-509