

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.08.010

下丘脑 Nesfatin-1/NUCB2 对糖尿病小鼠摄食的影响 *

张 玮^{1,2} 王巧玲¹ 逢明杰³ 祝 海³ 郭菲菲¹ 孙向荣¹ 公衍玲⁴ 徐 璐^{1△}

(1 青岛大学医学院 病理生理学教研室 山东 青岛 266021; 2 菏泽鄄城县人民医院 山东 菏泽 274031;

3 青岛市立医院 山东 青岛 266011; 4 青岛科技大学化工学院 山东 青岛 266042)

摘要 目的:探讨下丘脑神经肽 NUCB2 与 Tsumura Suzuki (TS) 多基因突变 2 型糖尿病 (T2DM) 小鼠摄食过多的关系。**方法:**将动物分为 Tsumura Suzuki 糖尿病 (TSD) 小鼠、正常小鼠; 监视器监测小鼠摄食量; 分析血生化指标; 定量 RT-PCR 分析摄食相关神经肽 mRNA 表达水平; 放射免疫分析法检测 nesfatin-1 蛋白水平。**结果:**与年龄匹配的 TSN 小鼠相比, TSD 小鼠在 1 月龄就存在体重增加 ($P < 0.05$) 和高瘦素血症 ($P < 0.05$), 3-12 月龄出现贪食 ($P < 0.05$)、高血糖 ($P < 0.05$)、高血脂 ($P < 0.05$) 和高胰岛素血症 ($P < 0.05$), 且 3-12 月龄时厌食肽 nesfatin-1 前体核连蛋白 2 (NUCB2) mRNA 和 nesfatin-1 蛋白水平均显著降低 ($P < 0.05 \sim 0.01$); TSD 小鼠下丘脑甘丙肽、黑色素浓集素、神经肽 Y 及前黑素细胞皮质素原 mRNA 水平也有显著改变 ($P < 0.05$)。**结论:**下丘脑 NUCB2 介导信号通路破坏可能导致 TSD 小鼠摄食过多。

关键词:摄食过多; Nesfatin-1/NUCB2; 下丘脑; 糖尿病; 小鼠

中图分类号: Q95-3; R587.1 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2015)08-1440-04

The Effects of Hypothalamic Nesfatin-1/NUCB2 on Feeding in Diabetes Mice*

ZHANG Wei^{1,2}, WANG Qiao-ling¹, PANG Ming-jie³, ZHU Hai³, GUO Fei-fei¹, SUN Xiang-rong¹, GONG Yan-ling⁴, XU Luo^{1△}

(1 Department of Pathophysiology, Medical College of Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266021, China; 2 Juancheng County People's Hospital, Heze, Shandong, 274031, China; 3 Qingdao Municipal Hospital, Qingdao, Shandong, 266011, China; 4 College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong, 266042, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the relationship between hypothalamic neuropeptide NUCB2 and hyperphagic feeding in Tsumura Suzuki Diabetes (TSD) mice, a model of type 2 diabetes with polygenic abnormalities. **Methods:** Animals can be divided into Male Tsumura Suzuki Diabetes (TSD) mice, Tsumura Suzuki normal (TSN) mice. Food intake in mice was monitored and blood chemistry was analyzed. Quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) assay was used to measure the expression level of feeding-related neuropeptide mRNA; radiation immunoassay was used to detect the protein level of nesfatin-1. **Results:** TSD mice showed an increase in body weight ($P < 0.05$) and hyperleptinemia ($P < 0.05$) from 1 month of age and hyperphagic feeding ($P < 0.05$), hyperglycemia ($P < 0.05$), hyperlipidemia ($P < 0.05$) and hyperinsulinemia ($P < 0.05$) from 3 to 12 months of age compared with age-matched non-diabetic control TSN mice. The mRNA and protein levels of nucleobindin-2 (NUCB2), the precursor of the anorexigenic neuropeptide nesfatin-1, was significantly decreased ($P < 0.05 \sim 0.01$) in the hypothalamus of TSD mice compared with that in TSN mice from 3 to 12 months of age. The mRNA levels of galanin, melanin-concentrating hormone, neuropeptide Y, and pro-opiomelanocortin were significantly changed ($P < 0.05$) in the hypothalamus in TSD mice at several time points. **Conclusions:** The results suggest that the disrupted control of hypothalamic NUCB2-mediated signaling may contribute to hyperphagic feeding in TSD mice.

Key words: Hyperphagic feeding; Nesfatin-1/nucleobindin-2; Hypothalamus; Diabetes; Mice

Chinese Library Classification (CLC): Q95-3; R587.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)08-1440-04

前言

2 型糖尿病 (T2DM) 患者在世界范围逐年迅速递增。2 型

糖尿病的发生与环境因素相关, 这给人类遗传性分析带来了困难。动物模型在生物医学研究中广泛应用, 可能会为人类 2 型糖尿病的研究带来新的进展^[1]。Tsumura Suzuki 糖尿病 (TSD)

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (31071014; 81100260; 81270460; 81300281; 81470815);

青岛市科技局项目 (13-1-4-170-jch, 11-2-3-3-(2)-nsh; 14-2-3-3-nsh)

作者简介: 张玮 (1979-), 女, 硕士研究生, 主治医师, 主要研究方向: 神经内分泌, 电话: 0532-82991713, E-mail: tingbaobao07@sina.com

△ 通讯作者: 徐璐, E-mail: xu.luo@163.com

(收稿日期: 2014-05-05 接受日期: 2014-06-01)

小鼠是一种尿糖呈现阳性的模型动物^[3],与 TS 正常(TSN)小鼠相比,TSD 小鼠早在 4 周龄就出现肥胖和体脂增加,持续至 18 月龄^[3]。TSD 小鼠腹腔内注射葡萄糖后血糖水平显著升高,葡萄糖刺激胰岛素释放敏感性减弱,胰岛素治疗后出现的低血糖反应也减少^[4]。TSD 小鼠的骨骼肌和脂肪组织中胰岛素刺激 2-[3H]脱氧葡萄糖的再摄取,以及葡萄糖转移-4 蛋白移位受损^[5],因此 TSD 小鼠胰岛素抵抗增强、胰岛素分泌减少,但其产生机制不清楚。

下丘脑神经肽可调控循环激素、营养物质和脂肪因子之间相互作用,调控热量摄取和能量消耗平衡^[6]。该系统破坏将导致摄食过多,肥胖甚至 T2DM^[7]。有文献报道,TSD 小鼠比正常小鼠摄食明显增多^[8],提示 TSD 小鼠下丘脑调控摄食作用可能受损。本研究拟检测下丘脑与摄食相关神经肽,如:核连蛋白 2 (NUCB2),神经肽 Y(NPY),甘丙肽(GAL),黑色素浓集激素(MCH),前皮质素原(POMC)^[9-13],以及测定下丘脑 NUCB2 mRNA 表达水平,旨在阐明下丘脑神经肽的表达与 TSD 小鼠摄食过多之间的关系。

1 材料和方法

1.1 动物

雄性 TSD 小鼠 10 只、TSN 小鼠 10 只,分笼饲养,每笼 2-3 只,自由进食饮水。室温保持 $23 \pm 2^\circ\text{C}$,湿度 $55 \pm 10\%$,12 h 循环光照(8:00-20:00)。实验前所有动物适应性饲养一周。

1.2 摄食

实验小鼠早晨 8:00 开始监测摄食情况,24 h 后小鼠放回原笼中,计算 24 h 摄食量。

1.3 生化

小鼠腹腔戊巴比妥钠麻醉(50 mg/kg),实验结束后腔静脉采集血液标本。收集的血液样本与乙二胺四乙酸(EDTA)混合,4℃ 1000×g 离心 10 min,收集血浆样本后立即在 -80℃ 冰箱冻存。葡萄糖 C-II 试剂盒检测血浆葡萄糖水平,甘油三酯 E 试剂盒检测甘油三酯和总胆固醇水平,ELISA 检测胰岛素和瘦素水平。

1.4 定量 RT-PCR 分析

实验结束后小鼠断头处死,迅速分离下丘脑。RT-PCR 检测 nesfatin-1/NUCB2、NPY、GAL、MCH 和 POMC mRNA 水平。使用 Tri-RNA 试剂盒提取下丘脑组织总 RNA,用 1 μg 总 RNA 和寡核苷酸 dT 引物合成 cDNA。以 cDNA 为模板,加入 TaqDNA 聚合酶和相关神经肽特异性引物,μ-actin 作为内参,常规 PCR 进行扩增。PCR 产物经 1.4% 琼脂糖凝胶电泳,Image Tool 软件(University of Texas at San Antonio)分析结果。扩增条件:95℃ 1 min,95℃ 30 s,54℃ 15 s,72℃ 15 s (40 个循环)。观察该 PCR 产物的熔解曲线(94℃ 0 s,55℃ 15 s,94℃ 0 s;温度变化速度为 0.1℃/s),并由电脑自动分析系统进行定量分析。以不含 cDNA 模板的 PCR 反应体系设为阴性对照。

1.5 放射免疫测定

配制 nesfatin-1 标准液,1:8000 抗 nesfatin-1 血清和 125I-nesfatin-1 液。脑区内 nesfatin-1 的提取和放免检测严格按说明书进行操作。动物实验完毕,迅速断头取脑。将脑置于煮沸的生理盐水中煮 5 min;吸干、分离下丘脑、称重,加 1 mol/L 盐酸

1.0 mL 制成匀浆,室温下静置 100 min。然后加 1 mol/L 氢氧化钠 1 mL 中和,离心(4000×g)20 min,取上清液测定。测定程序:各管加 125I-nesfatin-1 100 μL,抗 nesfatin-1 血清 100 μL。样品管加 100 μL(下丘脑)或 300 μL(其它脑区),标准管加 nesfatin-1 100 μL,最后以磷酸缓冲液补足总反应体积为 500 μL;40℃ 冰箱内孵育 24 h;各管加 1:3 羊抗兔血清 100 μL,继续孵育 24 h,离心(4000×g)20 min,弃上清液。测沉淀物的每分钟脉冲数(counts per minute, cpm),根据同批测定管的 nesfatin-1 竞争抑制曲线,求取每 mg 组织中 nesfatin-1-IR 的含量。

1.6 统计学分析

所有数据均用($\bar{x} \pm s$)表示,多样本均数的比较采用单因素方差分析(ANOVA),两样本均数的比较采用 t 检验,real-time PCR 结果分析采用 ΔCt 值表示,即检测待测基因 cDNA 进入 PCR 指数增长期的起始点即循环阈值(cycle threshold, Ct),以同一样本中神经肽和看家基因 μ-actin 之间的 Ct 差值(ΔCt),即 ΔCt = Ct 神经肽 - Ct μ-actin 进行组间资料的 t 检验(Prism 3.0 统计软件),P<0.05 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 TSD 小鼠生长、血糖、胆固醇、胰岛素和瘦素表达

与 TSN 小鼠相比,TSD 小鼠在 1 月龄时体重就明显增高($t=17.54, P<0.05$),可持续至 12 月龄(图 1A);TSD 小鼠从 3 月龄时摄食($t=16.71, P<0.05$,图 1B)、血浆葡萄糖水平($t=21.78, P<0.05$,图 1C)、甘油三酯($t=19.94, P<0.05$,图 1D)、总胆固醇($t=16.70, P<0.05$,图 1E)和胰岛素($t=8.95, P<0.05$,图 1F)水平均显著升高,但在 1 月龄时变化不明显;1-12 月龄 TSD 小鼠血浆瘦素水平也显著升高($P<0.05$,图 1G)。

2.2 TSD 小鼠下丘脑神经肽 mRNA 表达

表 1 结果显示,两组小鼠在 nesfatin-1/NUCB2、NPY、GAL、MCH 和 POMC 的 mRNA 水平有显著差异,TSD 小鼠在 3 月龄($t=20.17, P<0.05$)、7 月龄($t=11.93, P<0.05$)、12 月龄($t=9.2, P<0.05$)时下丘脑 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 水平显著降低,7 月龄时 NPY mRNA 水平显著升高($t=9.43, P<0.05$),3 月龄($t=7.91, P<0.05$)、7 月龄($t=8.81, P<0.05$)时 GAL mRNA 水平显著降低,7 月龄时 MCH mRNA 水平显著降低($t=8.9, P<0.05$),1 月龄时 POMC mRNA 水平显著升高($t=4.85, P<0.05$)。

2.3 TSD 小鼠下丘脑 nesfatin-1 水平

放射免疫分析结果显示,与 TSN 小鼠相比,TSD 小鼠在 3 月龄($t=2.55, P<0.05$)、7 月龄($t=2.37, P<0.05$)、12 月龄($t=2.23, P<0.05$)时下丘脑 nesfatin-1 含量显著降低(图 1H)。

3 讨论

1 月龄时,TS 小鼠即呈现出体重和瘦素水平显著升高,但是摄食,血浆葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇或胰岛素水平无显著改变,因此 TS 小鼠在 1 月龄时还未完全发展至 T2DM 状态。3-12 月龄时,TSD 小鼠呈现显著的体重和血浆葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇、胰岛素及瘦素水平增加,提示 3 月龄时 TS 小鼠可表现为 T2DM 类型。3 月龄后 TSD 小鼠还出现摄食过多,这与 T2DM 表型出现时间相一致。而 TSN 小鼠摄食随年龄增大

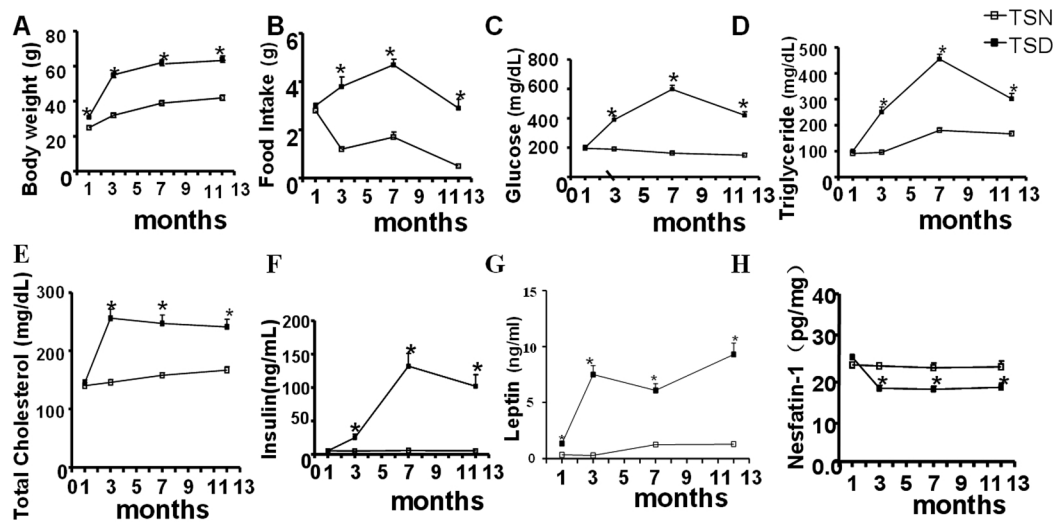


图 1 TSD 和 TSN 小鼠生长曲线

Fig.1 Growth Curves of TSD and TSN Mice

注:体重(A)、摄食(B)、血糖(C)、甘油三酯(D)、胆固醇(E)、胰岛素(F)、瘦素(G)和 nesfatin-1(H)。

*P < 0.05, 与同月龄 TSN 小鼠组相比

Note: Body Weight (A), Food Intake (B) and Plasma Levels of Glucose (C), Triglyceride (D), Total Cholesterol (E), Insulin (F), Leptin (G) and Nesfatin-1 (H).

*P < 0.05 vs. age-matched TSN mice.

表 1 TSN 和 TSD 小鼠下丘脑神经肽 mRNA 表达(ΔCt, n=10, $\bar{x} \pm s$)Table 1 Changes of hypothalamic neuropeptide mRNA in TSN and TSD mice(ΔCt, n=10, $\bar{x} \pm s$)

Group		nesfatin-1/NUCB2	NPY	GAL	MCH	POMC
TSN mice (months)	1	1.01± 0.01	1.02± 0.12	1.03± 0.08	1.02± 0.06	1.01± 0.07
	3	0.99± 0.02	0.98± 0.08	1.02± 0.13	1.01± 0.07	1.02± 0.09
	7	0.97± 0.05	0.97± 0.06	0.99± 0.10	1.02± 0.11	1.01± 0.08
	12	0.98± 0.06	0.99± 0.10	0.98± 0.09	1.03± 0.08	1.01± 0.07
TSD mice (months)	1	1.08± 0.01	1.30± 0.16	1.17± 0.13	1.06± 0.12	1.24± 0.14*
	3	0.76± 0.03*	1.32± 0.17	0.61± 0.10*	0.97± 0.07	0.87± 0.10
	7	0.75± 0.03*	1.65± 0.22*	0.65± 0.07*	0.68± 0.05*	1.15± 0.12
	12	0.77± 0.04*	1.21± 0.10	0.82± 0.08	0.84± 0.09	1.17± 0.13

注: *P < 0.05, 与同月龄 TSN 小鼠组相比。

Note: *P < 0.05 vs. age-matched TSN mice.

而减少。有报道称, TSN 成年小鼠食物消耗减少^[14]。

下丘脑通过循环营养物质、激素和脂肪因子来接收代谢信号, 从而调整热量摄入及能量消耗。下丘脑神经肽是关键的摄食调节因子, 这些神经肽的生成和神经活性受代谢状态的影响。NUCB2 是一种厌食分子^[9]。Nesfatin-1 是 NUCB2 的一个氨基酸片段, 在 NUCB2 介导厌食功能中起关键作用^[9]。本研究发现, TSD 小鼠 3 月龄时下丘脑 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低, 这种差异可持续至 12 月龄, 这个持续时间与 TSD 小鼠表现出贪食和 T2DM 表型时间一致, 但其他神经肽表达的改变与这个时间不完全一致。有研究报道另一种 2 型糖尿病模型 db/db 小鼠, 它是一种缺乏瘦素受体的突变体小鼠, 3 月龄时 db/db 小鼠体重及血浆葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇、胰岛素和瘦素水平显著升高, 但 db/db 和 db/+ 小鼠下丘

脑 nesfatin-1/NUCB2 mRNA 表达无显著差异^[15]。有报道称 nesfatin-1/NUCB2 的中枢厌食效应不依赖下丘脑瘦素信号通路, 而是由黑质色素系统介导的^[9, 16]。因此, TSD 小鼠与 db/db 小鼠呈现相似的代谢状态, 但是潜在机制不同。

TSD 小鼠下丘脑 GAL、MCH、NPY 和 POMC 的 cDNA 水平有显著改变, 但是与摄食过多出现的时期不相符, 推测, 这些神经肽可能在一定条件下参与能量平衡的调控。NPY 是一种促食欲神经肽类, 尽管 NPY 神经活性原广泛分布于下丘脑, 但原位杂交及免疫组织化学研究发现, NPY 神经元主要表达于下丘脑弓状核(ARC)和背内侧核^[17]。许多 2 型糖尿病模型鼠, 如 db/db 和 ob/ob 小鼠, 下丘脑 NPY mRNA 表达显著增加^[18], 敲除 NPY 基因可部分恢复 ob/ob 小鼠贪食、肥胖、高血糖症和高胰岛素血症。因此, 下丘脑 NPY 信号上调与 T2DM 状态摄食

过多有关。7月龄时 TSD 小鼠下丘脑内 NPY mRNA 表达显著增加,血糖和胰岛素也呈高水平状态,因此,TSD 小鼠糖尿病病情较严重时,可激活 NPY 介导的促食欲信号,引起摄食过多。

下丘脑 GAL 具有促食欲效应。除了对摄食行为有影响,GAL 还影响代谢功能,引起能量消耗减少及棕色脂肪组织交感神经激活。GAL 和 NPY 的生理功能可相互弥补。Hohmann 等报道,NPY 缺乏小鼠下丘脑 GAL mRNA 表达增加^[19]。本研究显示,3-7 月龄 TSD 小鼠下丘脑 GAL mRNA 表达显著降低,3-7 月龄 TSD 小鼠下丘脑 GAL 转录降低可能归因于中和了升高的 NPY 转录。

哺乳类动物 MCH 有较强的促食欲效应,脑室内注射 MCH 可增加大鼠摄食。过度表达 MCH 的转基因小鼠,在高脂饮食条件下可呈现贪食、肥胖和高血糖。MCH 缺乏小鼠,摄食减少,耗氧量增加。MCH 主要表达于下丘脑外侧核,与中枢神经系统有广泛神经元投射^[20]。之前有研究报道,与 ob/+ 小鼠相比,ob/ob 小鼠下丘脑 MCH mRNA 表达水平上调^[20]。MCH 缺乏 ob/ob 小鼠出现肥胖表型,说明 MCH 是作用于瘦素下游的主要的神经肽^[19]。最近研究显示,7 月龄 TSD 小鼠下丘脑 MCH mRNA 水平显著降低,推测下丘脑 MCH 介导信号可能与 TSD 小鼠摄食过多相互作用,但这种机制还不清楚。

1 月龄 TSD 小鼠下丘脑内 POMC mRNA 水平显著升高,但摄食行为正常。POMC 是 α -MSH 的前体蛋白,具有潜在厌食效应,POMC 表达受下丘脑瘦素信号通路调节。1 月龄 TSD 小鼠呈现高瘦素血症。POMC 是 β 内啡肽和促肾上腺皮质激素的前体,因此不能排除下丘脑 POMC mRNA 表达改变在 TSD 小鼠中发挥其他生理作用。

综上所述,TSD 小鼠摄食减少可能与下丘脑 nesfatin-1/NUCB2 信号通路表达障碍有关。TSD 小鼠可能成为不依赖于瘦素通路研究摄食过多、肥胖和 T2DM 的重要动物模型。

参考文献(References)

- [1] Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview[J]. Indian J Med Res, 2007, 125(32): 451-472
- [2] Shimada T, Kosugi M, Tokuhara D, et al. Preventive effect of pine bark extract (flavangenol) on metabolic disease in Western diet-loaded tsumura suzuki obese diabetes mice [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011, 20(11): 185-191
- [3] Kawada T, Miyata S, Shimada T, et al. A study of cardiovascular function in Tsumura Suzuki obese diabetes, a new model mouse of type 2 diabetes[J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(14): 998-1003
- [4] Kudo T, Toda T, Ushiki T, et al. Differences in the pharmacokinetics of Cyp3a substrates in TSOD and streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Xenobiotica, 2010, 40(4): 282-290
- [5] Takahashi A, Tabuchi M, Suzuki W, et al. Insulin resistance and low sympathetic nerve activity in the Tsumura Suzuki obese diabetic mouse: a new model of spontaneous type 2 diabetes mellitus and obesity[J]. Metabolism, 2006, 55(34): 1664-1669
- [6] Schwartz MW, Porte D Jr. Diabetes, obesity, and the brain[J]. Science, 2005, 307(67): 375-379
- [7] Zhu X, Jiang S, Hu N, et al. TNF- α Inhibition with Lenalidomide Alleviates Tissue Oxidative Injury and Apoptosis in ob/ob Obese mice[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2014, 17(10): 1440-1681
- [8] Kudo T, Shimada T, Toda T, et al. Altered expression of CYP in TSOD mice: a model of type 2 diabetes and obesity [J]. Xenobiotica, 2009, 39(17): 889-902
- [9] Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, et al. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus [J]. Nature, 2006, 443 (245): 709-712
- [10] Ruipan Z, Xiangzhi M, Li L, et al. Differential expression and localization of neuropeptide Y peptide in pancreatic islet of diabetic and high fat fed rats[J]. Peptides, 2014, 54(22): 33-38
- [11] Fang P, Yu M, Shi M, et al. The neuropeptide galanin benefits insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes [J]. Curr Protein Pept Sci, 2013, 14(8): 669-673
- [12] Sakurai T, Ogawa K, Ishihara Y, et al. The MCH (1) receptor, an anti-obesity target, is allosterically inhibited by 8-methylquinoline derivatives possessing subnanomolar binding and long residence times[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(5): 1287-1298
- [13] Cyr NE, Steger JS, Toorie AM, et al. Central Sirt1 Regulates Body Weight and Energy Expenditure Along With the POMC-Derived Peptide α -MSH and the Processing Enzyme CPE Production in Diet-Induced Obesity Male Rats[J]. Endocrinology, 2014, 28(5): 13-24
- [14] Starr ME, Saito H. Age-Related Increase in Food Spilling by Laboratory Mice May Lead to Significant Overestimation of Actual Food Consumption: Implications for Studies on Dietary Restriction, Metabolism, and Dose Calculations[J]. J. Gerontol, 2012, 784(342): 2354-2363
- [15] 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
- [16] Su Y, Zhang J, Tang Y, et al. The novel function of nesfatin-1: anti-hyperglycemia[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 391(1): 1039-1042
- [17] YANG L, Scott KA, Hyun J, et al. Role of dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y in modulating food intake and energy balance [J]. J Neurosci, 2009, 29(17): 179-190
- [18] Beck B. Neuropeptide Y in normal eating and in genetic and dietary-induced obesity [J]. Philos Trans R Soc Lond, 2006, 361(24): 1159-1185
- [19] Hohmann JG, Teklemichael DN, Weinshenker D, et al. Obesity and endocrine dysfunction in mice with deletions of both neuropeptide Y and galanin[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24 (9): 2978-2985
- [20] Moden JJ, Haude K, Carroll R, et al. Analyzing the role of receptor internalization in the regulation of melanin-concentrating hormone signaling[J]. Int J Endocrinol, 2013, 20(13): 143-152