

PVN 微量注射 Phoenixin 对大鼠摄食及胃功能的影响

李明^{1,2} 于琪³ 李文师⁴

1 青岛大学基础医学院 山东青岛 266021 2 沂南县人民医院检验科 山东临沂 276300
3 临沂市人民医院核医学科 山东临沂 276000 4 黔东南民族职业技术学院 贵州凯里 556000

〔摘要〕目的 探讨下丘脑室旁核 (PVN) 微量注射 Phoenixin (PNX) 对大鼠摄食、胃运动、胃酸及胃液分泌和胃排空的影响及潜在机制。方法 PVN 置管, 84 只大鼠随机分为 4 组 (n=21)。① NS 组: PVN 微量注射 0.5 μ l NS; ② PNX 组: PVN 微量注射 2 nmol PNX/0.5 μ l; ③ BMS193885 组, PVN 微量注射 5.0 nmol /0.5 μ l NPY 受体 1 (NPY1R) 拮抗剂 BMS193885; ④ PNX+BMS193885 组: PVN 微量注射 (2 nmol PNX+5.0 nmol BMS193885) /0.5 μ l。上述每组大鼠再随机分为 3 组 (n=7), 分别观察 PVN 注射药物后对大鼠摄食、胃运动、胃排空、胃液及胃酸分泌的影响。结果 PVN 微量注射 PNX 可显著促进大鼠摄食、胃运动、胃排空、胃液及胃酸分泌; 与 PNX 组相比, PNX+BMS193885 组大鼠摄食、胃运动、胃排空、胃液及胃酸分泌显著下降; 但与 NS 组相比, PVN 微量注射 BMS193885 对大鼠摄食、胃运动、胃排空、胃液及胃酸分泌无显著影响。结论 PVN PNX 可促进大鼠摄食及胃功能, 其机制可能与 NPY1R 信号通路相关。

〔关键词〕Phoenixin; PVN; 摄食; 胃运动; 胃排空

〔中图分类号〕R338 〔文献标识码〕A 〔文章编号〕2095-7165 (2020) 03-005-03

Effects of PVN Phoenixin on food intake and gastric function in rats

〔Abstract〕Objective To explore the effects of PVN injection of PNX on food intake, gastric motility, gastric acid secretion and gastric emptying in rats and its potential mechanism. Methods After catheterization of PVN, the rats were randomly divided into 4 groups. ① NS group: PVN microinjection NS; ② PNX group: PVN microinjection PNX; ③ BMS193885 group: PVN microinjection NPY receptor 1 antagonist BMS193885; ④ PNX+BMS193885 group: PVN microinjection PNX+BMS193885. To observe the effects of microinjection of PNX into PVN on food intake, gastric motility and gastric emptying in rats. Results Compared with NS group, microinjection of PNX into PVN significantly promoted food intake, gastric motility and gastric emptying in rats. Compared with PNX group, food intake, gastric motility and gastric emptying in PNX+BMS193885 group decreased significantly, but compared with NS group, PVN microinjection of BMS193885 had no significant effect on food intake in rats. Conclusions PVN PNX can promote food intake, gastric motility and gastric emptying in rats, and its mechanism may be related to NPY1R signal pathway.

〔Key words〕Phoenixin; PVN; Feeding; Gastric Motility; Gastric Emptying

0 引言

PNX 是 2013 年在下丘脑发现的参与生殖调控的内分泌肽^[1]。在中枢 PNX 神经元主要分布于下丘脑 (如外侧区 LHA, 腹内侧核 VMH, 弓状核 ARC, 室旁核 PVN 等)、杏仁核、丘脑未定带 (ZI)、孤束核 (NTS) 等^[2]。但 PNX 神经元可发出纤维广泛投射至整个大脑 (包括下丘脑诸核团、腹侧背盖区 VTA、杏仁核等等), PNX 受体 (Gpr 173) 分布也与 PNX 纤维投射部位基本一致^[3]。近年研究发现, PNX 还参与摄食^[4]、情绪^[5]、学习记忆^[6]等生理活动调控。

下丘脑位于大脑腹侧, 丘脑的下方, 是间脑的组成部分, 虽然体积较小, 却是大脑皮层下调节内脏活动的高级中枢, 包括多个神经核团, 并接收来自多部位的神经传入信息, 被认为神经系统和内分泌系统的调控中心。下丘脑可调节内脏活动与其他生理活动, 不仅可通过神经和血管途径调节机体的激素水平, 还可整体性的对自主神经系统如内分泌、水盐平衡、摄食、生物节律等重要的生理功能进行调控^[28]。其中, PVN 是下丘脑重要的核团之一, 可整合外周信号和神经通路的传入信息, 对摄食及胃酸分泌胃运动等胃功能进行调控, 并调节能量平衡。先前研究表明, 侧脑室注射 PNX, 可显著促进大鼠摄食^[4], 但 PVN 内 PNX 阳性神经元信号如何对大鼠摄食

及能量代谢过程进行调控还鲜有报道。

本研究拟观察 PVN 注射 PNX 对大鼠摄食、胃运动、胃酸分泌及胃排空的影响及潜在机制, 目的是补充和完善 PNX 对能量平衡调控理论, 为临床治疗能量代谢相关疾病提供新的研究思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

8 周龄雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠, 体质量在 220-250 g, 购于青岛市药物检验所, 饲养于室温 (25 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C)、12 h:12 h 昼夜循环光照, 自由饮水进食。实验开始前, 大鼠禁食但不禁水 24 h。所有动物遵循《青岛大学实验动物保护和和使用管理方法》。所有实验都按照青岛实验动物中心标准。

1.2 实验方法

1.2.1 PVN 核团置管

大鼠经腹腔注射 10% 水合氯醛 (0.3ml/100g) 麻醉, 俯卧位固定于脑立体定位仪, 头部备皮后沿正中做一切口, 双氧水腐蚀皮下组织, 充分暴露颅骨。以前囟为原点, 参照 Paxinos 大鼠脑图谱^[42], 在颅骨表面定位 PVN (前囟后: 1.7-1.9mm, 旁开: 0.2-0.4mm, 深: 7.9-8.1mm), 并以牙科钻钻透颅骨, 以眼科剪剪去硬脑膜及蛛网膜, 暴露脑实质, 将不

锈钢套管 (24 gauge, 直径 1.5mm) 由液压推进泵缓慢推入 LHA, 并以 502 胶及牙托粉固定, 以长 25mm, 直径 1.35mm 针灸针为套管内芯, 防止堵塞。埋管结束后缝合大鼠头皮, 术后连续 3 天腹腔注射 8 万单位青霉素预防感染, 一周后进行后续实验。

为了检测核团或侧脑室定位是否准确, 实验结束后经套管向大鼠 PVN 内缓慢注射溴胺天蓝溶液, 随后麻醉大鼠, 经心脏灌注固定, 断头取脑, 制作 50 μ m 冠状冰冻切片, 显微镜下观察药物注射的位置是否准确, 位置不准确者弃去不用。

1.2.2 PVN 微量注射 PNX 对大鼠摄食的影响

将 PVN 核团置管大鼠随机分为 4 组 (n=7)。① NS 组: PVN 微量注射 0.5 μ l NS; ② PNX 组: PVN 微量注射 0.5 μ l 2 nmol PNX; ③ BMS193885 组, PVN 微量注射 0.5 μ l 5.0 nmol NPY 受体 1 (NPY1R) 拮抗剂 BMS193885; ④ PNX+BMS193885 组: PVN 微量注射 0.5 μ l 2 nmol PNX+5.0 nmol BMS193885。按照分组注射药物后, 将大鼠单独放置在已知食物重量的测量笼中, 立即给予大鼠定量普通食物、高脂食物或高糖食物, 连续监测 2 小时摄食量。摄食量 = 已知食物量 - (剩余食物量 + 溢出残渣量)。

1.2.3 PVN 微量注射 PNX 对大鼠胃运动的影响

大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 麻醉, 仰卧位固定, 腹部备皮, 于剑突下行一长约 1cm 的正中切口, 充分暴露胃部。自胃幽门部向上 0.3cm 处, 沿胃窦环形肌方向将应力传感器缝贴于胃窦的浆膜外层, 应力传感器的导线由大鼠背部皮下绕至后颈部, 通过后颈部皮肤切口穿出体外固定, 并在体表留置 2-3cm 导线以便与记录仪相连。逐层缝合腹壁肌肉、皮下组织以及皮肤。术后连续 3 天腹腔注射 8 万单位青霉素预防感染, 待大鼠恢复正常饮食并且无应激反应后进行后续实验。

将 PVN 核团置管大鼠随机分为 4 组 (n=7)。① NS 组: PVN 微量注射 0.5 μ l NS; ② PNX 组: PVN 微量注射 0.5 μ l 2 nmol PNX; ③ BMS193885 组, PVN 微量注射 0.5 μ l 5.0 nmol NPY 受体 1 (NPY1R) 拮抗剂 BMS193885; ④ PNX+BMS193885 组: PVN 微量注射 0.5 μ l 2 nmol PNX+5.0 nmol BMS193885。核团注射 PNX 等药物, 观察在体胃运动变化。以胃运动指数 (MI) 对大鼠胃运动进行量化, $MI (\%) = (\text{给药后曲线下面积}) / (\text{给药前曲线下面积}) \times 100\%$ 。

1.2.4 PVN 微量注射 PNX 对大鼠胃排空的影响

将 PVN 核团置管大鼠随机分为 4 组 (n=7)。① NS 组: PVN 微量注射 0.5 μ l NS; ② PNX 组: PVN 微量注射 0.5 μ l 2 nmol PNX; ③ BMS193885 组, PVN 微量注射 0.5 μ l 5.0 nmol NPY 受体 1 (NPY1R) 拮抗剂 BMS193885; ④ PNX+BMS193885 组: PVN 微量注射 0.5 μ l 2 nmol PNX+5.0 nmol BMS193885。大鼠禁食 18 h 后按照分组经 PVN 置管给药, 给药后大鼠经口灌胃 1.5 mL 酚红, 20 min 后大鼠经颈椎脱臼法处死, 迅速剖开大鼠腹壁, 结扎胃幽门及贲门, 将胃完整取出。生理盐水冲洗胃体外部, 剪开胃壁将胃及胃内容物置于 100 mL NaOH (0.1 N) 中, 搅拌混匀后室温静置 1 h, 取 5 mL 上清液加入 0.5 mL 20% 三氯乙酸, 混匀后 3000 g 离心 20 min, 取 1 mL 上清液加入 4 mL NaOH (0.5 N) 混匀, 倒入比色皿。采用分光光度计测量在 560 nm 处的吸光值。标准品处理同上, 仅不含胃及胃内容物。

胃排空率 (%) = $(1 - \text{样本 } A_{560} / \text{标准品 } A_{560}) \times 100\%$

1.2.5 PVN 微量注射 PNX 对大鼠胃酸分泌的影响

空腹大鼠麻醉后仰卧位固定, 上腹部备皮, 剑突下沿腹正中中线向下剪开, 钝性分离肌层, 再沿腹白线切开腹壁, 长约 1 厘米。充分暴露胃底, 在胃食管交界处结扎食管 (避免伤及迷走神经干)。然后在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。检查导管灌流的生理盐水流出顺畅后缝合腹部切口处肌肉、皮肤。每 15 分钟用 5ml 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。按照分组经 PVN 置管给予大鼠注射药物, 药物刺激后共观察 120 分钟, 每 15 分钟用 5ml 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, 酸排出量以 μ Eq/h 表示。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 18.0 和 PPMS 1.5 软件分析数据, 所有数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间采用 t 检验或 Mann-Whitney U 检验, 两组以上实验数据采用 Kruskal-Wallis 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PVN 微量注射 PNX 对大鼠摄食的影响

与 NS 组相比, PVN 微量注射 PNX 可显著促进大鼠摄食 (P<0.05); 与 PNX 组相比, PNX+BMS193885 组大鼠摄食量显著下降 (P<0.05); 但与 NS 组相比, PVN 微量注射 BMS193885 对大鼠摄食无显著影响 (P>0.05)。

表 1: PVN 微量注射 PNX 对大鼠摄食的影响

组别	摄食量 (g)
NS 组	7.95 $\pm$ 1.08
PNX 组	9.86 $\pm$ 1.21*
BMS193885 组	7.83 $\pm$ 0.91
PNX+BMS193885 组	8.73 $\pm$ 1.18 [#]

*P<0.05, 与 NS 组相比; [#]P<0.05, 与 PNX 组相比

2.2 PVN 微量注射 PNX 对大鼠胃运动的影响

与 NS 组相比, PVN 微量注射 PNX 可显著促进大鼠 MI% (P<0.05); 与 PNX 组相比, PNX+BMS193885 组大鼠 MI% 显著下降 (P<0.05); 但与 NS 组相比, PVN 微量注射 BMS193885 对大鼠 MI% 无显著影响 (P>0.05)。

表 2: PVN 微量注射 PNX 对大鼠胃运动的影响 (MI%)

组别	MI%
NS 组	98.76 $\pm$ 12.84
PNX 组	148.93 $\pm$ 21.87*
BMS193885 组	95.21 $\pm$ 19.26
PNX+BMS193885 组	129.89 $\pm$ 18.73 [#]

*P<0.05, 与 NS 组相比; [#]P<0.05, 与 PNX 组相比

2.3 PVN 微量注射 PNX 对大鼠胃排空的影响

与 NS 组相比, PVN 微量注射 PNX 可显著促进大鼠胃排空 (P<0.05); 与 PNX 组相比, PNX+BMS193885 组大鼠胃排空显著下降 (P<0.05); 但与 NS 组相比, PVN 微量注射 BMS193885 对大鼠胃排空无显著影响 (P>0.05)。

表 3: PVN 微量注射 PNX 对大鼠胃排空的影响 (%)

组别	胃排空 (%)
NS 组	51.97 $\pm$ 11.84
PNX 组	76.83 $\pm$ 15.73*
BMS193885 组	49.83 $\pm$ 10.86
PNX+BMS193885 组	65.49 $\pm$ 9.59 [#]

* $P < 0.05$, 与 NS 组相比; * $P < 0.05$, 与 PNX 组相比

2.4 PVN 微量注射 PNX 对大鼠胃液及胃酸分泌的影响

PNX 注射 NS 或 BMS193885 大鼠基础胃酸分泌量无显著变化 ($P > 0.05$)。与 NS 组相比, PVN 注射 PNX 可诱导大鼠胃酸分泌 ($5.17 \pm 0.84 \mu\text{Eq}/15\text{min}$ vs $9.81 \pm 1.26 \mu\text{Eq}/15\text{min}$, $P < 0.05$); 与 PNX 组相比, PVN 微量注射 PNX+BMS193885 混合液, PNX 对大鼠胃酸分泌的促进作用被部分抑制 ($7.49 \pm 0.63 \mu\text{Eq}/15\text{min}$ vs $9.81 \pm 1.26 \mu\text{Eq}/15\text{min}$, $P < 0.05$)。

3 讨论

本研究通过 PVN 微量注射 PNX, 观察 PNX 对大鼠摄食、胃运动、胃排空及胃酸分泌的影响, 结果发现, 大鼠 PVN 微量注射 PNX 可显著促进大鼠摄食、胃运动、胃排空及胃酸分泌, 且 NPY1R 信号通路参与 PNX 对大鼠摄食、胃运动、胃排空及胃酸分泌的调控。

PNX 最初发现于下丘脑, 参与调控生殖, 而近年研究发现, PNX 还参与摄食^[4]、情绪^[5]、学习记忆^[6]等生理活动调控。侧脑室注射 PNX, 可显著促进大鼠摄食^[4]。但目前尚未有研究探究 PNX 对摄食调控的机制, 为了进一步确定 PNX 促食效应的关键脑区, 研究中向 PVN 微量注射 PNX, 观察 PNX 对摄食的调控, 结果发现 PVN 微量注射 PNX 可显著促进大鼠摄食、胃运动、胃排空及胃酸分泌。

神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY) 含 36 个氨基酸, 属肽多肽家族^[7]。NPY 在调控摄食、体重等方面发挥着重要作用, 是一种内源性促摄食因子^[8]。NPY 受体有 6 种亚型, 中枢注射 NPY 可显著促进大鼠摄食, 主要通过 NPY1R 和 NPY5R。Icy 注射 NPY1R 拮抗剂 BMS193885 可减少大鼠摄食量。PVN 是参与摄食整合的重要脑区。促食欲肽能系统和厌食系统的信息可在 PVN 中汇聚、整合。但 PNX 对大鼠 PVN 参与胃传入信息和摄食调控及机制仍不清楚。本研究发现, BMS193885 可部分阻断

PNX 在 PVN 对大鼠摄食、胃运动、胃排空及胃酸分泌的促进作用。提示 NPY1R 信号通路参与 PNX 对大鼠摄食、胃运动、胃排空及胃酸分泌的调控。

综上所述, 大鼠 PVN PNX 可促进大鼠摄食、胃运动、胃排空及胃酸分泌, 其机制可能与 NPY1R 信号通路相关。

[参考文献]

- [1]Clarke Sophie A, Dhillon Waljit S. Phoenixin and Its Role in Reproductive Hormone Release[J]. Semin. Reprod. Med. 2019, 37: 191-196.
- [2]Martha A. Schallaa, Andreas Stengel. The role of phoenixin in behavior and food intake[J]. Peptides. 2019,114:38-43.
- [3]Martha A. Schalla, Andreas Stengel. Phoenixin-A Pleiotropic Gut-Brain Peptide[J]. International Journal of Molecular Sciences. 2018,19:1726-1739.
- [4]M. Schalla, P. Prinz, T. Friedrich, et al., Phoenixin-14 injected intracerebroventricularly but not intraperitoneally stimulates food intake in rats[J]. Peptides. 2017,96:53-60
- [5]Jiang JH, He Z, Peng YL, et al. Effects of Phoenixin-14 on anxiolytic-like behavior in mice[J]. Behav. Brain Res., 2015, 286, 39-48.
- [6]Jiang JH, He Z, Peng YL, et al. Phoenixin-14 enhances memory and mitigates memory impairment induced by A β 1-42 and scopolamine in mice[J]. Brain Res. 2015, 1629:298-308.
- [7]Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, et al. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. Nature, 2006, 443 (7112): 709-712.
- [8]Clark J T, Kalra P S, Crowley W R, et al. Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. Endocrinology, 1984, 115 (1): 427-429.

(上接第 3 页)

转变为嗜睡, 直至昏迷, 瞳孔也会散大, 病情严重甚至会停止呼吸; 这些变化多在患者患病后 24h-12d 内出现。

本研究中, 通过对比未提供颅内压监测手术治疗与提供颅内压监测手术治疗对双侧额叶脑挫伤患者的运用效果, 发现, 与对照组对比, 观察组甘露醇用量更少, 住院时间更短, 有比较意义 ($P < 0.05$); 与治疗前对比, 两组治疗后颅内压更低, 昏迷程度更轻, 与对照组对比, 观察组颅内压更低, 昏迷程度更轻, 有比较意义 ($P < 0.05$); 两种治疗方案对比结果表明, 预见性手术减压的运用价值极高, 值得选用^[4]。

综上所述, 双侧额叶脑挫伤患者中运用预见性手术减压的效果显著, 与未提供颅内压监测手术治疗对比, 颅内压更低, 昏迷程度更轻, 甘露醇用量更少, 住院时间更短, 双侧额叶

脑挫伤患者值得运用预见性手术减压治疗方案。

[参考文献]

- [1]金建辉. 单侧入路显微手术治疗双侧额叶脑挫裂伤的临床研究[J]. 江西医药, 2019, 54(4):354-355.
- [2]黄进兴, 胡威, 古晋亮, 等. 侧脑室前夹角变化在双侧额叶脑挫裂伤临床诊治中的价值[J]. 中国临床研究, 2019, 32(3): 374-377.
- [3]何祥中, 林昆哲, 薛少华, 等. 双侧额叶脑挫裂伤 16 例颅内压监测的临床意义[J]. 福建医药杂志, 2019, 41(3):23-26.
- [4]胡立峰. 双侧去骨瓣减压术对双侧额叶脑挫裂伤并发中央型脑病患者术后康复及 NIHSS 评分的影响[J]. 中国实用医刊, 2018, 45(17):41-43.

(上接第 4 页)

研究结果相同。

通过对大肠癌患者相关资料进行回顾性分析, 我们可以得出: 要想较好预防大肠癌, 就需要养成良好的饮食习惯, 合理膳食, 营养均衡, 同时, 形成良好生活习惯, 多参加体育锻炼, 控制体重。此外, 相关卫生机构应当定期对社区居民进行筛查, 从而可以尽早发现、尽早诊断, 尽早开展治疗。对于高发群体, 则要大力推行直肠指诊, 并配合纤维结肠镜检查进行检查, 从而精准鉴别初期大肠癌与癌前病变, 以利于尽早确诊, 并给予治疗, 从而减少大肠癌的出现机率, 并使死亡率得到下降。

[参考文献]

- [1]李珍, 于久飞. 中青年大肠癌患者的临床及病理特征观察[J]. 影像研究与医学应用, 2018, 2(16):256.
- [2]陈美丽, 李琳, 禹立霞, 等. 微卫星状态与术后大肠癌患者的临床及病理特征相关性研究[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(3):131-136.
- [3]陈倩如. 大肠癌住院病例临床特征分析[J]. 医学信息, 2019, 32(2):145-147.
- [4]胡艳玲, 周军. 对比不同年龄大肠癌患者的临床特点及病理特征[J]. 中国社区医师, 2017, 33(27):111-112.