

大熊猫胃肠道神经肽 Y 和长型瘦素受体的表达

罗启慧¹, 唐秀莹¹, 陈正礼¹, 汪开毓¹, 王承东², 李德生², 李才武²

1 四川农业大学动物医学院 动物疾病与人类健康中心四川省重点实验室, 四川 雅安 625014

2 中国保护大熊猫研究中心 濒危动物遗传与育种四川省重点实验室, 四川 雅安 625014

罗启慧, 唐秀莹, 陈正礼, 等. 大熊猫胃肠道神经肽 Y 和长型瘦素受体的表达. 生物工程学报, 2015, 31(8): 1175–1183.
Luo QH, Tang XY, Chen ZL, et al. Expression of neuropeptide Y and long leptin receptor in gastrointestinal tract of giant panda. Chin J Biotech, 2015, 31(8): 1175–1183.

摘 要: 为了观察神经肽 Y (NPY) 和瘦素长型受体 (OB-Rb) 在大熊猫胃肠道的表达分布, 并探讨其功能。本实验选用中国保护大熊猫研究中心濒危动物繁殖与保护遗传四川省重点实验室提供的 3 例大熊猫胃肠组织样品, 采用 HE 和免疫组化 SABC 法进行组织学、NPY 及 OB-Rb 蛋白的表达研究。HE 染色结果显示 3 例大熊猫胃肠道组织学结构完整, 主要表现在单细胞和多细胞黏液腺丰富、小肠绒毛较长, 肠道黏膜肌层与肌肉层较厚等。免疫组化方法观察到 NPY 和 OB-Rb 阳性产物广泛分布于大熊猫的胃肠道中。NPY 阳性神经纤维呈串珠状或点状排列, 主要位于黏膜下神经丛和肌间神经丛内, 前者阳性神经纤维数量较多。NPY 阳性细胞主要分布于黏膜层和肠腺, 多呈椭圆形、多边形等。OB-Rb 阳性产物主要分布在黏膜层, 且在固有层内有大量阳性细胞分布。表明 NPY 和 OB-Rb 在大熊猫肠道中的广泛表达, 为研究 NPY 和 OB-Rb 影响肠道的生长发育、消化吸收、免疫等多种功能奠定了基础。

关键词: 大熊猫, 神经肽 Y, 瘦素长型受体, 免疫组化, 胃肠道

Received: November 18, 2014; **Accepted:** January 4, 2015

Supported by: Project of China Conservation and Research Center for the Giant Panda Club, Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (No. IRT0848), Youth Innovation Research Team Foundation of Sichuan Province Science and Technology Bureau (No. 2013TD0015).

Corresponding author: Zhengli Chen. Tel: +86-835-2885754; E-mail: chzhli75@163.com

中国保护大熊猫研究中心大熊猫俱乐部项目, 教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目 (No. IRT0848), 四川省青年科技创新研究团队项目 (No. 2013TD0015) 资助。

Expression of neuropeptide Y and long leptin receptor in gastrointestinal tract of giant panda

Qihui Luo¹, Xiuying Tang¹, Zhengli Chen¹, Kaiyu Wang¹, Chengdong Wang², Desheng Li², and Caiwu Li²

¹ College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University/Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Ya'an 625014, Sichuan, China

² Key Laboratory for Reproduction and Conservation Genetics of Endangered Wildlife of Sichuan Province, China Conservation and Research Center for the Giant Panda, Ya'an 625014, Sichuan, China

Abstract: To study the expression and distribution of neuropeptide Y (NPY) and long leptin receptor (OB-Rb) in the gastrointestinal tract of giant panda, samples of three animals were collected from the key laboratory for reproduction and conservation genetics of endangered wildlife of Sichuan province, China conservation and research center for the giant panda. Paraffin sections of giant panda gastrointestinal tissue samples were observed using hematoxylin-eosin staining (HE) and strept avidin-biotin complex immunohistochemical staining (IHC). The results show that the intestinal histology of three pandas was normal and no pathological changes, and there were rich single-cell and multi-cell mucous glands, long intestinal villi and thick muscularis mucosa and muscle layer. Positive cells expressing NPY and OB-Rb were widely detected in the gastrointestinal tract by IHC methods. NPY positive nerve fibers and neuronal cell were widely distributed in submucosal plexus and myenteric plexus, especially in the former. They were arranged beaded or point-like shape. NPY positive cells were observed in the shape of ellipse and polygon and mainly located in the mucous layer and intestinal glands. OB-Rb positive cells were mainly distributed in the mucous layer and the laminae propria, especially the latter. These results confirmed that NPY and OB-Rb are widely distributed in the gut of the giant panda, which provide strong reference for the research between growth and development, digestion and absorption, and immune function.

Keywords: giant panda, neuropeptide Y, long leptin receptor, immunohistochemistry, gastrointestinal tract

瘦素 (Leptin) 是由脂肪组织分泌的含 167 个氨基酸残基的肽类, 通过与其受体结合而发挥生理调控功能。根据胞内片段氨基酸长度及序列组成的差异, 瘦素受体可分为长型受体和短型受体。OB-Rb 是唯一的长型受体并被认为是激活信号传递通路的主要功能性受体^[1]。神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY) 由 36 个氨基酸组成, 从分子结构看, 哺乳类的序列大体一致。Leptin 和 NPY 因参与调节能量代谢、神经内分泌和免疫反应等功能而受到关注, 且 Leptin 具有介导 NPY 功能的作用^[2-3]。Leptin 与其受体 OB-Rb 结合通过激活 JAK/STAT、MAPK 等信号

通路调节下游因子 (包括 NPY, POMC 等) 的分泌与释放^[4-5]。资料显示哺乳类^[6-7]、两栖类^[8]、鱼类^[9-10]等的胃肠道上都有 OB-Rb 和 NPY 表达, 但分布不同。NPY 和 OB-Rb 在胃肠道的表达分布与胃肠道的消化吸收等功能密切相关^[11-13]。有关大熊猫胃肠道 NPY 和 OB-Rb 的分布和形态特点未见报道。大熊猫因食性特殊, 其胃肠道结构理应发生适应性进化, 为探讨大熊猫胃肠道 NPY 和 OB-Rb 表达分布情况, 本实验运用 HE、免疫组织化学方法对 NPY 和 OB-Rb 在大熊猫胃肠道各段进行研究, 为大熊猫胃肠道内分泌研究提供形态学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

大熊猫胃肠道组织由中国保护大熊猫研究中心濒危动物繁殖与保护遗传四川省重点实验室提供,共3例。

1.2 HE 染色和免疫组化检测

1.2.1 样品处理与切片

胃肠各段用4%多聚甲醛磷酸缓冲液(pH 7.4)进行固定。石蜡切片,片厚6 μm ,切片3组:苏木精-伊红(Hematoxylin-eosin, HE)染色观察组织学形态;免疫组化染色;免疫组化阴性对照。

1.2.2 NPY 和 OB-Rb 免疫组化检测

切片37 $^{\circ}\text{C}$ 烤片过夜,常规脱蜡至水,入3% H_2O_2 中15 min以除去内源性过氧化物酶活性,蒸馏水洗5 min,重复3次。将切片浸入pH 9.0的Tris/EDTA中,煮沸修复15 min,自然冷却至室温。Tris-HCL缓冲盐溶液(TBS)洗5 min,重复2次。5%封闭液,37 $^{\circ}\text{C}$,30 min。倾去多余液体不洗,分别滴加TBS稀释后的一抗NPY(1:800)(兔抗鼠NPY多克隆抗体,英国Abcam公司)和OB-Rb(1:200)(兔抗鼠OB-Rb多克隆抗体,北京博奥森公司),4 $^{\circ}\text{C}$,孵育10 h,TBS洗5 min,重复3次。配制二抗(1:1000)(山羊抗兔IgG H&L(HRP),英国Abcam公司),37 $^{\circ}\text{C}$,孵育1 h,TBS洗5 min,重复4次。配制SABC(1:100),37 $^{\circ}\text{C}$,孵育20 min,0.02% Tween 20 TBS洗5 min,重复4次,TBS洗5 min,重复3次。新鲜配制3,3'-二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)显色5-10 min,镜下观察显色情况,脱水、透明、封片。

阴性对照实验用TBS代替一抗,其余步骤相同。

1.3 显微拍照及图像分析

将制得的切片在Nikon50i-BF荧光生物数码显微镜下拍照观察记录,用江苏捷达801形态分析软件对阳性细胞进行分析,每只动物每个部位随机选取5张切片,测量阳性细胞的表达总面积、平均光密度值及灰度值。平均光密度表示在视野内所有阳性产物的平均反应强度;平均灰度值为阳性产物的染色强度,染色越深,其灰度值越小。数值用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,直接存于计算机,用Duncan多重比较的方法进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 大熊猫胃肠道组织学观察

本实验HE染色观察到大熊猫胃肠道组织学无病理性变化。胃肠道黏膜肌层和肌层均较厚,质地致密,且胃肠各段的内环肌层都厚于外纵层。整个胃肠道表现为单细胞和多细胞黏液腺非常丰富。小肠绒毛较长,绒毛上杯状细胞相当丰富,过渡到结肠段绒毛消失,但杯状细胞更加发达。

2.2 OB-Rb 在胃肠道中的表达结果

2.2.1 OB-Rb 在胃肠道中分布及形态特征

对大熊猫胃肠道OB-Rb进行观察,阳性物质多表达于胞质中,也有胞膜着色的细胞,视切面不同而异,核呈阴性。阴性对照实验,仅见背景染色,未见阳性物质。阳性细胞呈现为黄褐色,有卵圆形、多边形等。胃肠道均有OB-Rb的表达,胃腺上有大量阳性细胞,胃底腺的阳性胞质呈深浅不一的棕黄色,阳性细胞核呈椭圆形、多边形、不规则形(图1A和1B)。从细胞形态和大小判断,推测为壁细胞和主细胞。肠道外膜、部分黏膜下和肌间神经丛

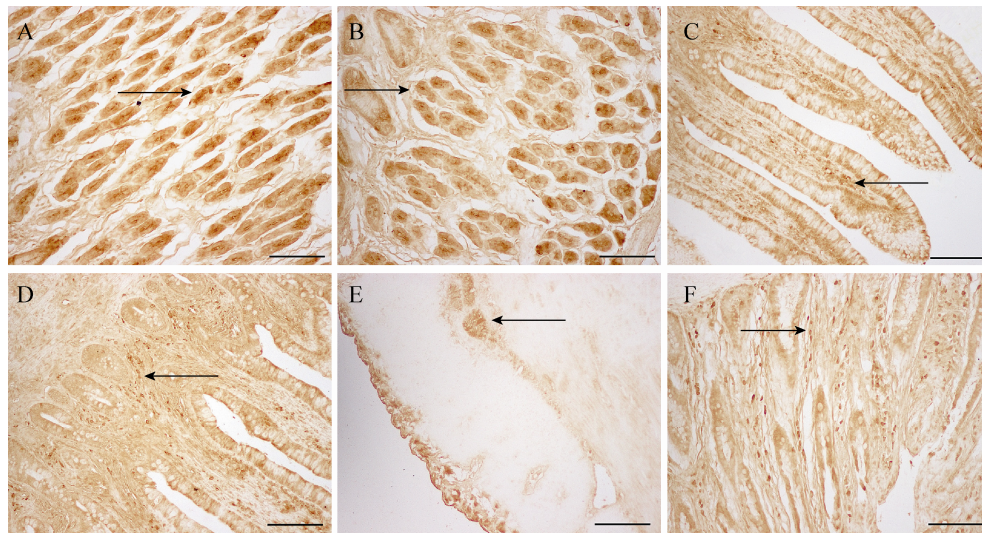


图1 大熊猫胃肠道 OB-Rb 的表达 (SABC)

Fig. 1 OB-Rb immunoreactivity in the gastrointestinal (SABC). (A, B) Stomach. (C) Duodenum. (D) Jejunum. (E) Ileum. (F) Colon. Arrow shown positive position. The icon marked A-B for 50 μm ; C-F for 100 μm .

上均有阳性表达 (图 1C), 且肠黏膜神经丛上也有 OB-Rb 的表达。肠道从外至内的各层组织中以黏膜层中的固有层表达最为丰富 (图 1D-F), 在肠腺周围环绕着较多阳性细胞 (图 1D), 从其形态结构和分布疑似淋巴细胞样阳性细胞。

2.2.2 OB-Rb 在胃肠道中分布比较

对大熊猫胃肠道 5 个部位 OB-Rb 阳性细胞表达总面积、平均光密度及平均灰度测量所得的数据用 Duncan 多重比较的方法进行了统计分析, 实验结果详见表 1。可见胃肠各段 OB-Rb 阳性产物分布不同, 呈现一定的规律: 其中阳性表达总面积以胃、结肠较大, 空肠表达量最低; 结肠的平均光密度值高; 平均灰度值则呈现相反的趋势。

2.3 NPY 在胃肠道中的表达结果

2.3.1 NPY 在胃肠道中分布及形态特征

在整个胃肠道中, NPY 阳性反应的神经纤维和神经元细胞体呈棕褐色或棕黄色。阴性对照切片染色结果为未见阳性产物 (图 2A)。NPY 神经

纤维遍布胃肠壁各层且分布不均。呈串珠状或点状排列, 黏膜下神经丛和肌间神经丛内均有分布, 其中以前者分布居多 (图 2B)。在胃肠消化管的浆膜至黏膜下层, 胃和十二直肠区域有粗大的 NPY 阳性神经纤维, 到肠道的回肠区 NPY 阳性神经纤维开始变少。NPY 阳性神经纤维分布密度与神经丛的分布可能直接相关, 有小血管的地方几乎都有 NPY 阳性神经纤维的伴行 (图 2C)。

胃肠的 NPY 阳性神经元胞体大小不等, 形状不一, 呈卵圆形, 不规则形或扁平形, 胞质呈棕褐色。在胃有腺部、回肠、结肠、直肠的黏膜层上分布有很多阳性 NPY 细胞体, 尤以结肠区分布较多 (图 2D-F)。但胃、十二指肠和空肠分布神经元胞体较少, 阳性显色也较浅。NPY 阳性细胞体散在地分布在胃肠腺中, 有的穿插于肠黏膜上皮细胞和杯状细胞之间。细胞形态多样, 多数具有胞质突起, 似开放型细胞。细胞呈长梭形、柱形、锥形等, 细胞胞质突起的形态也是多样, 有的阳性细胞具有细长的胞突伸向肠

腔 (图 2G-H)。也有卵圆形或椭圆形的 NPY 阳性细胞，没有胞质突起，似封闭型细胞 (图 2I)。

2.3.2 NPY 在胃肠道中分布比较

NPY 阳性神经纤维及细胞的分布密度在大

鼠胃肠道各部位显示不均匀的分布 (表 2)，分别对表达总面积、平均光密度值及平均灰度值进行统计学分析，发现胃与各肠段差异明显 ($P<0.05$)，而各肠段之间差异并不明显。

表 1 大熊猫胃肠道 OB-Rb 的分布

Table 1 Distribution of OB-Rb in gastrointestinal tract of the giant panda

	Stomach	Duodenum	Jejunum	Ileum	Colon
Positive cell areas (μm^2)	1 215.26 \pm 149.68 ^b	849.53 \pm 29.55 ^c	555.29 \pm 41.30 ^d	955.05 \pm 24.46 ^c	1 620.78 \pm 131.49 ^a
The mean of light density	0.24 \pm 0.01 ^b	0.22 \pm 0.01 ^c	0.25 \pm 0.01 ^b	0.23 \pm 0.01 ^c	0.26 \pm 0.01 ^a
The mean of gray density	148.47 \pm 1.37 ^b	152.58 \pm 2.68 ^a	144.82 \pm 2.97 ^b	151.65 \pm 2.04 ^a	139.58 \pm 1.09 ^c

The difference between mean with different small letters within a row is significant ($P<0.05$).

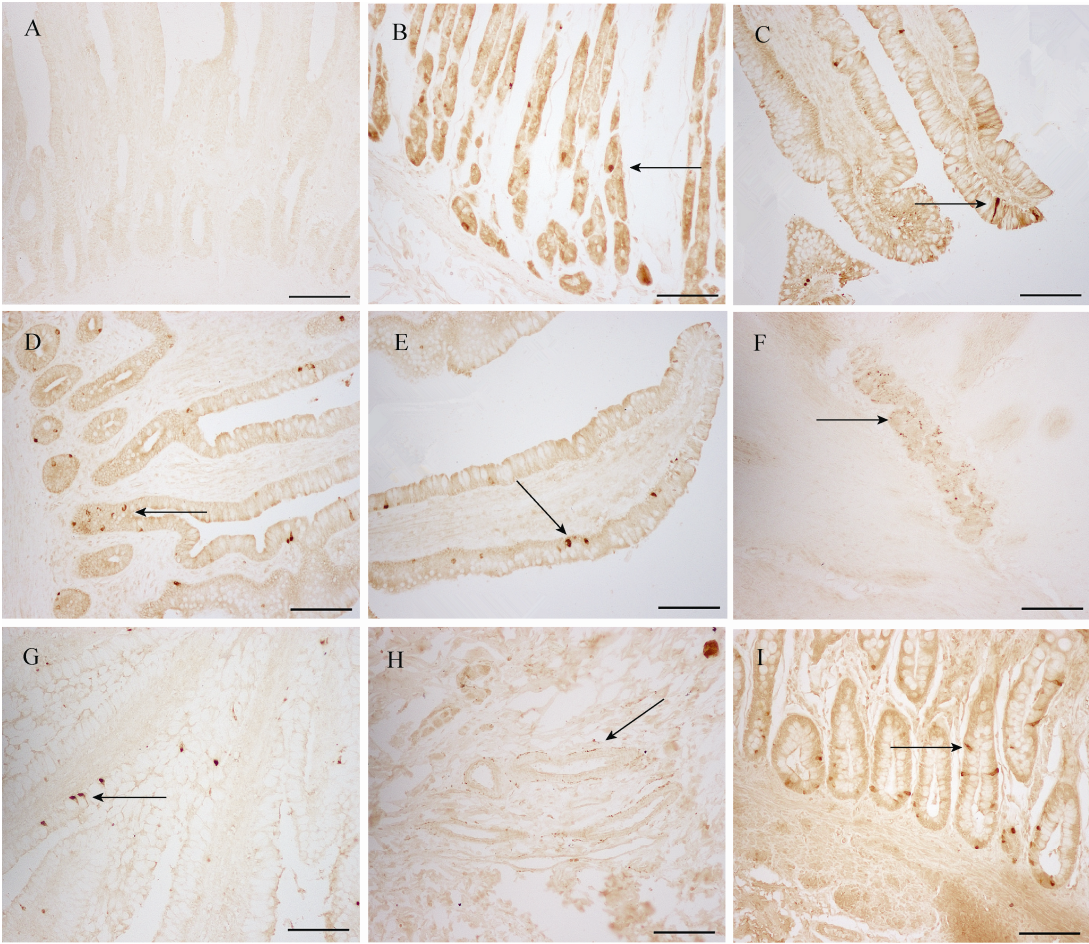


图 2 大熊猫胃肠道 NPY 的表达 (SABC)

Fig. 2 NPY immunoreactivity in gastrointestinal (SABC). (A) Jejunum (Negative). (B) Stomach. (C) Duodenum. (D,E) Jejunum. (F) Jejunum nerve plexus. (G) Ileum. (H) Ileal blood vessels. (I) Colon. Arrow shown positive position. The icon marked for 100 μm .

表 2 大熊猫胃肠道 NPY 的分布

Table 2 Distribution of NPY in gastrointestinal tract of the giant panda

	Stomach	Duodenum	Jejunum	Ileum	Colon
Positive cell areas (μm^2)	253.70 \pm 58.18 ^a	237.01 \pm 68.24 ^b	207.65 \pm 16.62 ^c	219.51 \pm 50.10 ^b	224.60 \pm 19.07 ^b
The mean of light density	0.36 \pm 0.02 ^a	0.28 \pm 0.02 ^b	0.26 \pm 0.01 ^b	0.26 \pm 0.02 ^b	0.28 \pm 0.02 ^b
The mean of gray density	113.66 \pm 6.71 ^b	132.61 \pm 5.61 ^a	136.82 \pm 6.32 ^a	140.21 \pm 7.92 ^a	134.55 \pm 7.94 ^a

The difference between mean with different small letters within a row is significant ($P<0.05$).

3 讨论

大熊猫实为肉食动物，有尖锐发达的犬齿、较短的肠道和肉食动物的消化生理特点。但由于生存环境变化，食性和习性的改变，机体渐渐适应了低营养、低消化率的竹类。对大熊猫消化系统及味觉基因的分析结果显示，大熊猫本身没有能够消化竹子纤维的基因，消化竹纤维主要靠胃肠道细菌群；另外，大熊猫废弃肉类食物主要原因为 Umami 受体基因 T1R1 的失活，无法感知肉的鲜味^[14-15]。基于外部环境和大熊猫本身的进化，大熊猫胃肠道的大体和显微形态结构发生了深刻的适应性变化。本实验显示大熊猫胃肠道组织学结构正常，与王平等^[16-17]的研究结果大致相同，主要表现在小肠绒毛较长，肠道黏膜肌层与肌肉层较厚，单细胞和多细胞黏液腺丰富。这与大熊猫胃肠道的黏液丰富以及大熊猫特有的排黏现象相适应。另一方面也有助于大熊猫粪便的排出，支持大熊猫依靠快吃快拉来维持新陈代谢的平衡现象。

自 OB-Rb 和 NPY 被成功克隆以来，有关 OB-Rb 和 NPY 在各类动物中枢和外周的分布研究国内外已有较多报道，OB-Rb 和 NPY 在中枢系统的共表达也有相关研究。研究发现，OB-Rb 和 NPY 在不同种属的表达部位和表达量并不一致。在对哺乳类和禽类的相关报道中，OB-Rb

的分布研究较多的是在下丘脑，胃肠道组织中也有报道。如 Jin 等^[18]用 RT-PCR、原位杂交法和免疫组化法发现 OB-Rb 在大鼠垂体前叶、脉络丛、大脑、下丘脑和脑膜等部位表达，且发现 OB-Rb mRNA 在微血管表达量较低，但在大脑的表达量是下丘脑的 5 倍。Mix 等^[19]研究发现，在人的胃黏膜有瘦素受体的表达，并推测瘦素通过旁分泌或自分泌作用于胃上皮细胞。Sobhani 等^[13]通过免疫组化、RT-PCR 和 Western blotting 分析发现瘦素的阳性细胞位于胃底腺下半部分，瘦素受体存在于胃体和胃窦细胞基底外侧膜，认为胃黏膜上皮细胞是瘦素的靶细胞。本实验在对大熊猫胃肠道 OB-Rb 表达研究中发现，在胃组织中 OB-Rb 主要表达于胃腺及其周围间质组织，主要位于胃底腺的中下部，与上述研究结果基本一致。笔者分析认为瘦素受体长型阳性细胞主要位于胃底腺的主细胞和壁细胞，且多数为壁细胞，并且 OB-Rb 在胃中表达量较高，认为 OB-Rb 与大熊猫胃的消化吸收功能密切相关。有研究表明大鼠、小鼠小肠瘦素受体长型表达于细胞质中，见于绒毛、肠腺和肠基底膜^[20]。现有研究显示在大鼠、小鼠和人体小肠的吸收细胞存在瘦素受体长型，认为瘦素具有调节营养物质吸收的生理作用。在对小鼠结肠炎模型上瘦素受体的表达研究中还发现瘦素受体的表达与 T 淋巴细胞调节炎症有关^[21]。

另外 B 淋巴细胞作为体液免疫应答过程中的主要效应细胞,其表面存在 OB-Rb,作为 T 淋巴细胞两大亚群的 CD4⁺和 CD8⁺ T 淋巴细胞表面也具有 OB-Rb^[22]。同时, NK 细胞也能调节 OB-Rb 的表达^[23]。本实验结果发现 OB-Rb 表达于肠上皮细胞、肠腺细胞及部分淋巴细胞,再次为 OB-Rb 在肠道的表达提供了依据。同时发现 OB-Rb 在结肠的表达总面积和平均光密度比其他部位高,平均灰度值达到最低。分析认为这与大熊猫特殊的食性和肠道结构有关。大熊猫从食肉慢慢进化为以食竹为主,其肠道主要以纤维素消化为主。加上大熊猫没有盲肠,结肠部位不仅起着消化重吸收的作用,同时承担着肠道免疫中最核心的部分。结合以往他人的研究与我们在研究中发现 OB-Rb 可高表达于淋巴细胞,推测 OB-Rb 在结肠中起到了较强的免疫调控作用。

已发现 NPY 存在于大鼠、豚鼠、猪的胃肠道中,并称 NPY 有控制非脉管平滑肌张力的作用^[6]。神经肽 Y 在人体的胃肠道的免疫反应性的分布、定量及起源也有阐述^[24]。已有研究称神经肽 Y 在肠道是一种节后交感神经元分泌的神经递质,且神经肽 Y 可影响水的吸收和离子转运^[25]。NPY 对胃肠道的机械消化和化学消化均有影响,NPY 调节胃肠道的功能源于它在胃肠道的表达分布。在对大熊猫胃肠道 NPY 表达研究发现,NPY 神经纤维遍布胃肠壁各层且分布不均,呈串珠状或点状排列,黏膜下神经丛和肌间神经丛内均有分布,我们研究结果与人和大鼠空肠的 NPY 神经纤维分布研究结果相似^[26]。NPY 阳性细胞体散在地分布于胃肠腺中,有的穿插于肠黏膜上皮细胞和杯状细胞之间。细胞形态多样,多数具有胞质突起,分为开放型和

封闭型细胞,与鱼类肠道 NPY 阳性细胞形态报道基本一致^[9,27-28]。NPY 在胃中表达量较肠道各段高,推测虽然 NPY 在胃肠各段消化功能均有调节作用,但对胃来说具有更强的调控能力,可能因为大熊猫吃进的竹类食物在胃内并没有充分的消化,那么就需要更强大的收缩力使胃内容物排到口径更小的肠道中去的缘故。

综上,本研究丰富了大熊猫胃肠道的形态学资料,同时发现 OB-Rb 和 NPY 在大熊猫胃肠道中有表达,首次对它们在大熊猫胃肠道的分布位置及相对表达量作了分析。研究显示大熊猫胃肠道 OB-Rb 和 NPY 分布类似于大多数哺乳动物,但也有差异。OB-Rb 分布广泛,不仅表达于吸收细胞,且在各类免疫相关细胞也有丰富表达。关于 NPY 阳性物质除了表达在神经纤维外,在黏膜层发现大量阳性 NPY 细胞,并呈现多种形态。另发现大熊猫肠道 NPY 神经纤维较少,推测这与大熊猫和其他动物体内神经丛分布情况不同及大熊猫独特的肠道结构有关。OB-Rb 和 NPY 在大熊猫胃肠道的丰富表达,提示 OB-Rb 和 NPY 参与大熊猫的生长发育、消化吸收、免疫等多种功能,为大熊猫的内分泌的形态学研究提供了依据,但具体机制还有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] Heshka JT, Jones PJH. A role for dietary fat in leptin receptor, OB-Rb, function. *Life Sci*, 2001, 69(9): 987-1003.
- [2] Czaja K, Lakomy M, Kaleczyc J, et al. Leptin receptors, NPY, and tyrosine hydroxylase in autonomic neurons supplying fat depots in a pig. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293(3): 1138-1144.

- [3] Horvath TL, Diano S, van den Pol AN. Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J Neurosci*, 1999, 19(3): 1072–1087.
- [4] Meister B. Control of food intake via leptin receptors in the hypothalamus. *Vitam Horm*, 2000, 59: 265–304.
- [5] Udagawa J, Hatta T, Otani H. Expression of the long form of leptin receptor (Ob-Rb) mRNA in the brain of mouse embryos and newborn mice. *Brain Res*, 2000, 868(2): 251–258.
- [6] Allen JM, Hughes J, Bloom SR. Presence, distribution, and pharmacological effects of neuropeptide Y in mammalian gastrointestinal tract. *Digest Dis Sci*, 1987, 32(5): 506–512.
- [7] Aparicio T, Kermorgant S, Darmoul D, et al. Leptin and Ob-Rb receptor isoform in the human digestive tract during fetal development. *J Clin Endocr Metab*, 2005, 90(11): 6177–6184.
- [8] Buono S, Putti R. Leptin, leptin receptors and ACTH immunoreactivities are present in the gastrointestinal tract and the neural tube of tadpoles of the new *Triturus*. *J Mol Histol*, 2004, 35(2): 103–109.
- [9] Jensen J, Conlon JM. Characterization of peptides related to neuropeptide tyrosine and peptide tyrosine-tyrosine from the brain and gastrointestinal tract of teleost fish. *Eur J Biochem*, 2005, 210(2): 405–410.
- [10] Liu Q, Chen Y, Copeland D, et al. Expression of leptin receptor gene in developing and adult zebrafish. *Gen Comp Endocr*, 2010, 166(2): 346–355.
- [11] Heredia MP, Delgado C, Pereira L, et al. Neuropeptide Y rapidly enhances $[Ca^{2+}]$ transients and Ca^{2+} sparks in adult rat ventricular myocytes through Y1 receptor and PLC activation. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 38(1): 205–212.
- [12] Nilsson T, Edvinsson L. Neuropeptide Y stimulates DNA synthesis in human vascular smooth muscle cells through neuropeptide YY1 receptors. *Can J Physiol Pharm*, 2000, 78(3): 256–259.
- [13] Sobhani I, Bado A, Vissuzaine C, et al. Leptin secretion and leptin receptor in the human stomach. *Gut*, 2000, 47(2): 178–183.
- [14] Jin K, Xue C, Wu X, et al. Why Does the Giant Panda Eat Bamboo? A comparative analysis of appetite-reward-related genes among mammals. *PLoS ONE*, 2011, 6(7): e22602.
- [15] Li R, Fan W, Tian G, et al. The sequence and *de novo* assembly of the giant panda genome. *Nature*, 2009, 463(7279): 311–317.
- [16] Wang P, Cao Z, Chen MS, et al. Histological study of giant panda, *Ailuropoda melanoleuca* I, the microstructure of digestive tract. *Acta Sci Nat Univ Pekinensis*, 1983(5): 67–78 (in Chinese).
王平, 曹焯, 陈茂生, 等. 大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 的组织学研究- I 消化道的显微结构. *北京大学学报: 自然科学版*, 1983(5): 67–78.
- [17] Wang P, Chen MS. Histological study of giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) III, the digestive tract of different age groups. *Acta Zool Sin*, 1989, 35(1): 33–40 (in Chinese).
王平, 陈茂生. 大熊猫的组织学研究 III. 消化道显微结构的年龄变化. *动物学报*, 1989, 35(1): 33–40.
- [18] Jin L, Zhang S, Burguera BG, et al. Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells. *Endocr*, 2000, 141(1): 333–339.
- [19] Mix H, Widjaja A, Jandl O, et al. Expression of leptin and leptin receptor isoforms in the human stomach. *Gut*, 2000, 47(4): 481–486.
- [20] Barrenetxe J, Villaro AC, Guembe L, et al. Distribution of the long leptin receptor isoform in brush border, basolateral membrane, and cytoplasm of enterocytes. *Gut*, 2002, 50(6): 797–802.
- [21] Siegmund B, Sennello JA, Jones-Carson J, et al. Leptin receptor expression on T lymphocytes modulates chronic intestinal inflammation in mice. *Gut*, 2004, 53(7): 965–972.
- [22] Papathanassoglou E, El-Hashimi K, Li XC, et al. Leptin receptor expression and signaling in lymphocytes: kinetics during lymphocyte activation, role in lymphocyte survival, and

- response to high fat diet in mice. *J Immunol*, 2006, 76(12): 7745–7752.
- [23] Wrann CD, Ehmer U, Lautenbach A, et al. Obesity and NK cells affect the expression of the long form of the leptin receptor Ob-Rb in liver of F344 rats. *Exp Toxicol Pathol*, 2010, 62(1): 1–8.
- [24] Koch TR, Roddy DR, Carney JA, et al. Distribution, quantitation, and origin of immunoreactive neuropeptide Y in the human gastrointestinal tract. *Regul Peptides*, 1988, 21(3): 309–319.
- [25] Holzer-Petsche U, Petritsch W, Hinterleitner T, et al. Effect of neuropeptide Y on jejunal water and ion transport in humans. *Gastroenterology*, 1991, 101(2): 325–330.
- [26] Jia YS, Pan CH, Wu RW, et al. Distribution of NPY immunoreactive nerves in the jejunum of rat. *Acta Univ Medi Anhui*, 1997, 32(1): 1–3 (in Chinese).
- 贾友苏, 潘朝宠, 吴瑞炜, 等. 大鼠空肠神经肽 Y 免疫反应性神经的分布. *安徽医科大学学报*, 1997, 32(1): 1–3.
- [27] Weng YZ, Fang YQ. Distribution and morphology of neuropeptide Y and β -endorphin endocrine cells in the gut of grey mullet, *Mugil cephalus* L. *Acta Hydrobiol Sin*, 2003, 27(6): 619–624 (in Chinese).
- 翁幼竹, 方永强. 神经肽 Y 和 β -内啡肽内分泌细胞在鲮鱼肠道中的分布和形态. *水生生物学报*, 2003, 27(6): 619–624.
- [28] Liu ZG, Weng YZ, Song HX, et al. Location of 5 types of gastrointestinal hormone endocrine cells in digestive tract of juvenile *Epinephelus coioides*. *J Fish Sci Chin*, 2009, 16(2): 199–205 (in Chinese).
- 刘志刚, 翁幼竹, 宋海霞, 等. 5 种胃肠激素样内分泌细胞在斜带石斑鱼稚鱼期消化道中的定位. *中国水产科学*, 2009, 16(2): 199–205.

(本文责编 陈宏宇)

《生物工程学报》对摘要的写作要求

1. 研究报告摘要：基本要素包括研究目的、方法、结果和结论（不用单列标题书写）。目的（Purpose）：主要说明作者写此文章的目的，或说明本文主要要解决的问题；方法（Methods）：重点说明作者的主要工作过程及使用的方法。应用性文章如需要，可注明条件、使用的主要设备和仪器。结果（Results）：本文最后得出的结果（实验数据部分）。结论（Conclusions）：如系基础研究，应写明本文的创新之处，及文章在讨论部分表述的观点；如系应用性研究，应尽可能提及本文结果和结论的应用范围和应用情况或应用前景。

2. 综述摘要：包括论述内容的发展水平、自己的评论及展望，尤其要注意结合自己的研究工作。

3. 英文摘要的撰写要点：英文摘要的内容应与中文摘要一致，但比中文摘要更详尽。英文摘要完成后，务必请英文较好、且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。凡不符合要求的，即使学术上可以达到刊出的水平，本刊也将推迟发表。

(1) 建议使用第一人称，尽量不使用第三人称和被动语态。

(2) 建议用主动语态，被动语态表达拖拉模糊尽量不用，这样可以免好多长句，以求简单清晰。

(3) 尽量使用清晰简练的短句，避免很长的句子。注意正确使用英文写作习惯和语法。

(4) 摘要应当使用过去时态，语法正确，句子通顺。

(5) 摘要中避免使用缩写语，除非是那些人人皆知的（如DNA、ATP等），或者确实是非常长，而且出现多次的短语才允许用缩写语，并且在第一次出现时要写出全称。

(6) 在英文摘要中，不要使用任何汉字字符，包括标点、括号、温度、希腊字母等。

(7) 句子的开头处最好不要使用数字。