

冷驯化对中缅树鼩能量代谢和下丘脑神经肽表达量的影响

张浩^{1#} 郑佳^{1#} 朱万龙¹ 刘继红² 孙舒然¹ 高文荣¹ 王政昆^{1*}

(1 云南省高校西南山地生态系统动植物生态适应进化及保护重点实验室, 云南师范大学生命科学院, 昆明 650500)

(2 昆明医科大学第二附属医院, 昆明 650101)

摘要: 中缅树鼩是分布于热带地区的物种。为研究在寒冷环境下中缅树鼩下丘脑神经肽对其生理适应性调节作用, 本研究测定了经冷驯化处理后中缅树鼩的体重、摄食量、血清瘦素浓度以及下丘脑多种神经肽表达量的变化。结果显示: 在冷驯化条件下, 中缅树鼩体重和摄食量增加, 血清瘦素浓度显著下降; 神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY) 表达量上升, 可卡因-苯丙胺调节转录肽 (Cocaine and amphetamine regulated transcript peptide, CART) 和阿片促黑色素原 (Pro-opiomelanocortin, POMC) 表达量降低, 豚鼠相关蛋白 (Agouti related peptide, AgRP) 表达量无显著性差异。表明在冷驯化条件下, 中缅树鼩主要通过改变 NPY、CART 和 POMC 基因的表达水平等参与调节能量代谢。

关键词: 下丘脑神经肽; 冷驯化; 中缅树鼩; 能量调节

中图分类号: Q494

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050(2015)04-0438-07

Effects of cold exposure on energy metabolism and hypothalamic neuropeptide expression levels in *Tupaia belangeri*

ZHANG Hao^{1#}, ZHENG Jia^{1#}, ZHU Wanglong¹, LIU Jihong², SUN Shuran¹, GAO Wenrong¹, WANG Zhengkun^{1*}

(1 Key Laboratory of Ecological Adaptive Evolution and Conservation on Animals-Plants in Southwest Mountain Ecosystem of Yunnan Province Higher Institutes College, School of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China)

(2 The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, China)

Abstract: Tree shrew (*Tupaia belangeri*) is a species which is distributed in tropical and subtropical regions. In the present study, we tested the hypothesis that hypothalamic neuropeptides were cues is to induce adjustments in body mass regulation and metabolism in cold-exposed *Tupaia belangeri*. Body mass, food intake and thermogenic capacity, serum leptin levels and hypothalamic neuropeptide expression levels were measured. The animals were subjected to either 5°C for 28 days in cold-exposed, or maintained under 25°C for 28 days. The results showed a significant increase in body mass and food intake in the cold exposure group, accompanied by a significant decrease in serum leptin levels, hypothalamic cocaine and amphetamine regulated transcript peptide (CART) mRNA and pro-opiomelanocortin (POMC) mRNA levels. Neuropeptide Y (NPY) mRNA was significantly increased in the cold exposure group, but there were no changes in hypothalamic agouti-related protein (AgRP) mRNA levels between the control and cold acclimation groups. All of the results suggest that hypo-leptinemia partially contributes to cold-induced hyperphagia, which might involve the elevation of hypothalamic NPY, CART and POMC gene expression.

Key words: Cold acclimation; Energy regulation; Hypothalamic neuropatide; *Tupaia belangeri*

在自然环境中, 能量代谢的生理适应性调节对提高动物的生存能力有重要意义 (Zhao and Wang, 2007; 赵志军等, 2009)。当小型哺乳动物遭遇寒冷环境时, 会出现与环境适应的生理性变化 (Vol-

基金项目: 国家国际科技合作专项项目 (2014DFR31040); 十二五科技支撑项目 (2014BAI01B00); 国家自然科学基金项目 (31360096)

作者简介: 张浩 (1981-), 男, 讲师, 主要从事动物生理生态学研究。# 为共同第一作者

收稿日期: 2014-11-24; 修回日期: 2015-06-13

* 通讯作者, Corresponding author, E-mail: wangzk_123@163.com

tura and Wunder, 1998; Nespolo *et al.*, 2002), 对动物的体重以及能量摄入有显著影响 (Voltura and Wunder, 1998)。下丘脑是重要的能量平衡和代谢平衡调节中枢 (雷帆等, 2002), 各个核团之间通过神经肽形成调节网络 (焦广发等, 2010)。下丘脑通过调整各种神经、内分泌和营养相关信号控制体重和能量平衡 (Chen *et al.*, 1996; Clement *et al.*, 2004)。

瘦素 (leptin) 是由肥胖基因 (*Ob* 基因) 编码, 脂肪细胞分泌 (Hakansson *et al.*, 1998), 经血液循环作用于下丘脑, 可影响下丘脑摄食相关神经肽的合成与释放。下丘脑内存在一系列与摄食相关的神经肽, 这些神经肽分为两类: 一类为促进食欲的神经肽, 如神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY)、豚鼠相关蛋白 (Agouti related peptide, AgRp) 等; 另一类为抑制摄食的神经肽, 如可卡因—苯丙胺调节转录肽 (Cocaine and amphetamine regulated transcript peptide, CART)、阿片促黑色素原 (Pro-opiomelanocortin, POMC) 等 (Friedman and Halaas, 1998; Kristensen *et al.*, 1998; Schwartz *et al.*, 2000)。瘦素作用于下丘脑弓状核, 可抑制 AgRp/NPY 神经元表达 AgRp 和 NPY, 同时促进 CART/POMC 神经元表达 CART 和 POMC (Elias *et al.*, 1999; Mizuno and Mobbs, 1999; Tung *et al.*, 2006), 通过减少摄食、增加能量消耗调节能量代谢, 使体重和体脂保持相对稳定 (李荣英和陈名道, 2001)。在小鼠的禁食和哺乳期, 瘦素含量降低, 促进 NPY/AgRP 神经元表达, 抑制 POMC/CART 神经元表达, 导致摄食量增加以维持能量稳态 (Smith *et al.*, 1993; Hahn *et al.*, 1998; Ahima *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 1999; Xiao *et al.*, 2005)。

中缅树鼩 (*Tupaia belangeri*) 属攀鼩目 (Scandentia) 树鼩科 (Tupauidae), 为东洋界热带、亚热带特有类群, 以现存树鼩的分布特征来看, 云贵高原及其附近的横断山可能构成了中缅树鼩的分布北限 (Sloan *et al.*, 1994)。以前的研究表明, 禁食可导致中缅树鼩的体重、代谢产热和血清瘦素显著降低 (Gao *et al.*, 2014)。中缅树鼩在冷驯化条件下会增加体重和摄食量, 并降低血清瘦素浓度 (Zhang *et al.*, 2012)。但下丘脑相关摄食神经肽在冷驯化过程中的作用还不清楚。本文测定了冷驯

化条件下体重、摄食量、血清瘦素浓度和下丘脑神经肽表达量的变化, 其结果为进一步研究在横断山特殊环境中, 下丘脑神经肽对中缅树鼩能量稳态调节奠定基础, 并比较该物种与典型北方小型哺乳动物下丘脑神经肽在冷环境下生理适应性调节的差异。

1 研究方法

1.1 动物来源

实验动物中缅树鼩于 2013 年 12 月捕自云南省昆明市禄劝县屏山镇 (北纬 $25^{\circ}25'$ - $26^{\circ}22'$, 东经 $102^{\circ}13'$ - $102^{\circ}56'$) 的灌木丛中, 海拔 1 679 m。昆明地处滇中高原北部, 属北亚热带高原气候, 年平均温度为 15.6°C ; 最热月 (7 月) 平均气温 22.6°C ; 最冷月 (1 月) 为 9.8°C 。

1.2 动物处理

捕获的中缅树鼩带回云南师范大学生命科学学院动物房单笼 (400 mm × 300 mm × 200 mm) 室温饲养, 根据邹如金等 (1991) 的报道, 配制中缅树鼩饲料, 光照为 12L: 12D。在温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 适应两周后进行实验。

为去除体重和性别对实验结果造成的影响, 实验选取体重相近的成年健康雄性中缅树鼩 16 只, 体重无显著性差异。将动物随机分为两组, 每组 8 只。一组为对照组 (25°C 室温饲养), 一组为冷驯化组 ($5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 饲养), 分别饲养 28 d。

1.3 摄食量测定

测定能量收支, 实验前一天 11: 00 - 13: 00 定时定量喂食, 次日 11: 00 - 13: 00 称量体重并小心收集剩余食物, 置于 65°C 真空干燥箱干燥至恒重, 称重 (精确到 0.01 g), 中缅树鼩摄食量的测定分别于驯化 0 d、7 d、14 d、21 d、28 d 测量, 7 d 为一个周期。

1.4 血清中瘦素浓度的测定

中缅树鼩驯化 28 d 称重后眼球取血, 断颈处死, 血液在 4°C 下静置 1 h 后, 在 4°C 条件下 $4\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 30 min, 吸取上层血清置于 -80°C 超低温冰箱保存。采用瘦素放射免疫分析试剂盒 (美国 Linco 公司生产) 测定血清瘦素浓度。

1.5 RNA 提取及纯度鉴定

处死后剪开颈背部皮肤, 用组织剪在枕骨大孔后剪下头部, 然后用眼科剪在头部正中线上剪至人

字缝，用镊子向两边拨开脑壳，迅速取出脑组织置于冰块上。腹切面向上，按大鼠脑立体定位图谱分别于视交叉前和乳头体后用双面刀片垂直切割，剥离大脑及周围组织，取出下丘脑。下丘脑总 RNA 的提取与纯化按照 RNAPure 高纯总 RNA 快速抽提试剂盒 (BioTeke Co.) 提供方法进行。琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 纯度和完整性。RNA 于 -80 °C 保存。

1.6 NPY、AgRP、POMC、CART 基因 cDNA 核心序列的扩增

根据表 1 所列引物 (章迪等, 2014), 以 cDNA 第一链为模板进行 RT-PCR 扩增, 扩增条件均为: 95°C 变性 3 min, 95°C 30 s, 54°C - 56°C 45 s, 72°C 1.5 min, 共 42 个循环, 72°C 延伸 10 min。扩增体系为 25 μL, 其中含有 1 μL Template (10 ng/μL), 1 μL Primer 01 (10 pmol/μL), 1 μL Primer 02 (10 pmol/μL), 12.5 μL 2 × Power Taq PCR Master Mix, 9.5 μL ddH₂O。以 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 RT-PCR 产物, 并送至昆明硕阳科技有限公司进行正反两个方向的序列测定。

表 1 扩增中缅树鼩 AgRp、NPY、POMC 和 CART 序列所用引物
Table 1 Primers used for amplifying AgRp, NPY, POMC, and CART genes of *Tupaia belangeri*

引物 Primer	序列 Sequence
AgRp01F	5' - ACCTGACGCACTTGACAGCC - 3'
AgRp02R	5' - GCACCAGTCCCTCCAAGTAGCC - 3'
NPY01F	5' - TCGCTCTGTCCCTGCTCGTGTG - 3'
NPY02R	5' - TCTCTTGCCGTATCTCTGCCTGGTG - 3'
POMC01F	5' - CCTGTGAAGGTGTACCCAATGTC - 3'
POMC02R	5' - CACGTTCTTGATGATGGCGTTC - 3'
CART01F	5' - AGAAGAAGTACGGCCAAGTCC - 3'
CART02R	5' - CACACAGCTTCCCGATCC - 3'
内参 01F	5' - GAGAGGGAAATCGTGCGTGAC - 3'
内参 02R	5' - CATCTGCTGGAAGGTGGACA - 3'

1.7 基于 SYBR Green I 的实时荧光定量 ΔΔCT 法

采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 公式法定量计算目的基因的转录表达水平, 用内参基因作均一化处理, $\Delta\Delta CT = (CT_{目的基因} - CT_{内参基因})_{处理组} - (CT_{目的基因} - CT_{内参基因})_{对照组}$, 目的基因的表达水平 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 可反映出该样本目的基因的初始模板量用内参基因均一化处理相对于对照样本的表达倍数 (差异) (Li-

vak et al., 2001; Crott et al., 2007; Ornatowska et al., 2007)。对于对照样本, $\Delta\Delta CT = 0$, $2^{-\Delta\Delta CT} = 1$, 对于处理组样本来说, 如果 $2^{-\Delta\Delta CT} > 1$, 说明该基因表达上调, 如果 $2^{-\Delta\Delta CT} < 1$, 则说明该基因表达下调。

1.7 实时荧光定量 PCR (FQ-PCR)

采用 ABI-7000™ 实时荧光 PCR 仪扩增模板 cDNA, 并检测荧光信号。按 SYBR Green realmastermix Mix 试剂盒说明配制 FQ-PCR 反应体系 (表 2)。

表 2 FQ-PCR 反应体系
Table 2 The reaction system of FQ-PCR

反应体系 Reaction system	体积 Volume
SYBR Green realmastermix Mix	9.0 μL
F Primer (12.5 μmol/L)	0.5 μL
R Primer (12.5 μmol/L)	0.5 μL
cDNA 模板	0.5 μL
RNase ddH ₂ O	9.5 μL
总体积 Total volume	20 μL

每个样本基因进行 3 次 FQ-PCR 平行重复, 后续数据处理均采用 3 个平行结果的平均值。扩增条件为第一步 94°C 2 min, 第二步 94°C 15 s, 第三步 60°C 45 s, 重复第二步到第三步 40 个循环。

1.8 统计分析

采用 SPSS 16.0 软件包进行实验数据的统计, 对冷驯化条件下的体重和摄食量采用重复测量方差分析, 体重和摄食量的组间差异采用独立样本 t 检验分析, 血清瘦素和下丘脑神经肽表达量采用独立样本 t 检验比较组间差别。结果均以平均值 ± 标准误差表示 (Mean ± SE), P < 0.05 为差异显著, P < 0.01 为差异极显著。

2 结果

2.1 体重

随着冷驯化时间的增加, 对照组体重无显著差异 ($F_{4,28} = 0.59, P = 0.21$), 冷驯化组差异极显著 ($F_{4,28} = 16.36, P = 0.004$) (图 1)。冷驯化后, 中缅树鼩体重逐渐增加, 在 14 d 时, 冷驯化组体重显著大于对照组 (14 d) ($t_{1,14} = 1.65, P = 0.03$), 21 d ($t_{1,14} = 2.94, P = 0.006$) 和 28 d ($t_{1,14} = 3.49, P = 0.001$) 时两组之间差异极显著。

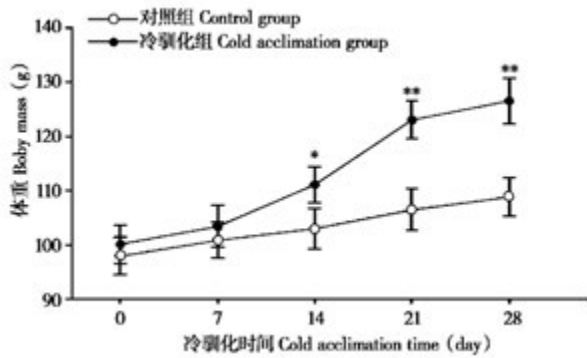


图1 冷驯化对中缅树鼩体重的影响. 与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Fig. 1 The effects of cold exposure on body mass in *Tupaia belangeri*. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control group

2.2 摄食量

随着冷驯化时间的增加, 对照组中缅树鼩的摄食量无显著性变化 ($F_{4,28} = 0.3$, $P = 0.73$), 冷驯化组差异极显著 ($F_{4,28} = 21.34$, $P = 0.001$) (图2)。冷驯化后, 中缅树鼩的摄食量随时间延长而增加, 14 d 时冷驯化组摄食量显著大于对照组 (14 d) ($t_{1,14} = 1.25$, $P = 0.04$), 21 d ($t_{1,14} = 3.26$, $P = 0.001$) 和 28 d ($t_{1,14} = 4.03$, $P = 0.001$) 时两组之间差异极显著。

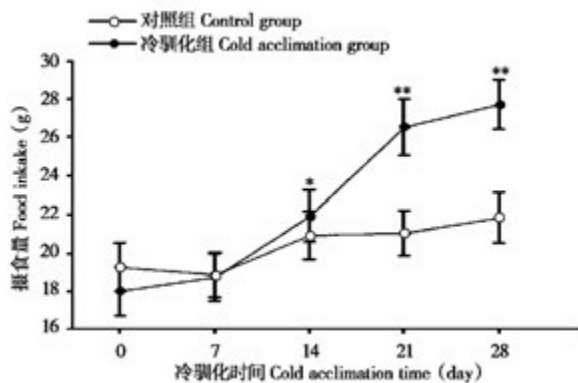


图2 冷驯化对中缅树鼩摄食量的影响. 与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Fig. 2 The effects of cold acclimation on food intake in *Tupaia belangeri*. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control group

2.3 下丘脑神经肽表达量的变化

在冷驯化下, 中缅树鼩 CART mRNA 表达量 ($t_{1,14} = 3.21$, $P = 0.013$)、POMC mRNA 表达量 ($t_{1,14} = 10.373$, $P = 0.001$) 极显著低于对照组, NPY mRNA 表达量 ($t_{1,14} = 2.41$, $P = 0.02$) 显著高于对照组, AgRp mRNA 表达量无显著变化。

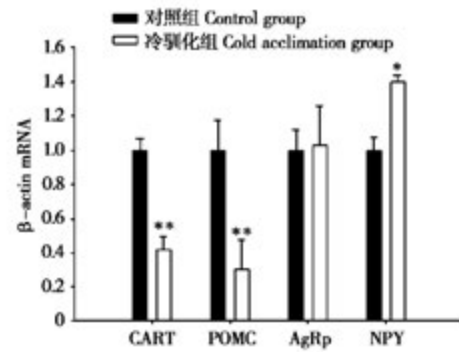


图3 冷驯化对中缅树鼩下丘脑 AgRp、NPY、CART 和 POMC 表达量的影响. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Fig. 3 The effects of cold acclimation on the expression quantity of AgRp, NPY, CART and POMC of hypoleptinemia in *Tupaia belangeri*. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.4 血清瘦素含量的变化

在冷驯化下, 中缅树鼩血清瘦素含量 (3.48 ± 0.17) ng/mL 显著低于对照组 (4.12 ± 0.13) ng/mL ($t = 3.051$, $P = 0.005$)。

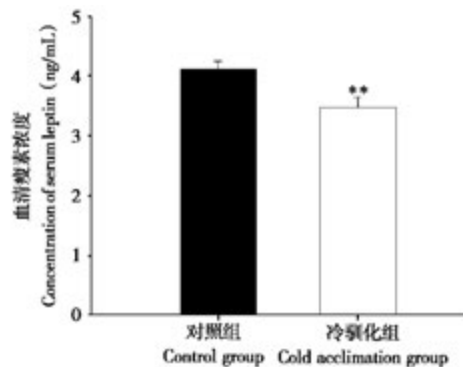


图4 冷驯化对中缅树鼩血清瘦素浓度的影响. ** $P < 0.01$

Fig. 4 The effects of cold acclimation on the concentration of serum leptin in *Tupaia belangeri*. ** $P < 0.01$

3 讨论

3.1 体重和摄入量的变化

动物出现生理生态特征的表型可塑性使能量摄入和能量消耗之间出现一个动态平衡 (Heldmaier, 1982), 哺乳动物体重的变化与其对冷环境的适应能力有关 (姜文秀等, 2009)。在本文中, 中缅树鼩在冷驯化条件下体重显著增加, 这与环颈旅鼠 (*Dicrostonyx groenlandicus*) 和金色中仓鼠 (*Mesocricetus auratus*) 等在冬季靠积累储备能量来增加体重 (Nagy *et al.*, 1993; Del Valle and Bush, 2003) 变化一致。而黑线毛足鼠 (*Phodopus sun-*

gorus)、鼯鼠属 (*Sorex*)、布氏田鼠 (*Lasiopodomys brandtii*) 等大多数典型北方小型哺乳动物在冬季或冷驯化条件下体重降低 (Bartness *et al.*, 1989; Li *et al.*, 2005a), 这被认为是动物在冷胁迫和食物缺乏期间通过减少总能量支出, 来适应环境的有利能量对策 (Lovegrove, 2005)。中缅树鼯的体重变化特征与北方高纬度地区小型啮齿动物不同, 这可能与中缅树鼯特殊分布区相关, 中缅树鼯分布于热带亚热带及高原地区, 冬季没有冰雪覆盖, 食物资源比较充足, 因此在一定程度上能通过增加食物摄入来补偿因低温胁迫引起的能量消耗。另一方面, 中缅树鼯体重增加使得相对体表面积减少, 降低热传导, 进一步增加低温适应能力 (张麟等, 2009)。在冷驯化下, 中缅树鼯的摄食量相对于对照组显著增加, 这与中缅树鼯冬季的摄食量高于夏季的结果一致 (李晓婷等, 2011)。而在冷环境下, 布氏田鼠 (Li *et al.*, 2005a)、长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*) (Li *et al.*, 2005b) 以及沙漠仓鼠 (*Phodopus roborovskii*) (Chi *et al.*, 2011) 摄食量均显著增加。低温是影响动物个体能量平衡的重要因子 (Kotejia *et al.*, 1994), 长期的低温胁迫可导致动物个体的能量消耗达到极限, 从而使能量输入和食物利用效率增加 (Abelenda *et al.*, 2003)。

3.2 下丘脑神经肽的表达量和血清瘦素浓度的变化

NPY、AgRp、CART 和 POMC 被认为在能量调节中有重要作用 (Schwartz *et al.*, 2000)。在冷驯化下, 中缅树鼯下丘脑神经元 NPY 表达量显著高于对照组, CART 和 POMC 在冷驯化下表达量极显著低于对照组, 从而使得冷驯化下食欲增加, 摄入量增加使得体重增加, 以补偿中缅树鼯在冷环境下产热增加。本研究中, AgRp 基因表达量冷驯化组相对对照组无显著性差异, 而布氏田鼠在冷驯化条件下, AgRp 基因表达量显著增加, NPY、CART 和 POMC 基因表达量相对于对照组无显著性差异 (Tang *et al.*, 2010)。这表明在寒冷环境中, 中缅树鼯作为分布于热带、亚热带地区的小型哺乳动物, 其下丘脑神经肽的表达与典型的北方小型哺乳动物有所不同。在中缅树鼯下丘脑神经元季节性变化中, NPY 的表达量夏季最低, 冬季最高; POMC 和 CART 的表达量夏季最高, 冬季最低, 其中只有

CART 的表达量差异显著 (朱万龙等, 2014)。在野外环境中, 影响中缅树鼯冬季下丘脑神经元表达的因子较多, 包括温度、光照、湿度和食物质量等。下丘脑神经元季节性变化和实验结果一致, 但在单一温度刺激下, 实验室结果更显著, 表明我国南部和西南部作为树鼯分布的北限, 温度可能是影响其不能继续向北扩散的主要原因。

在冷驯化下, 中缅树鼯血清瘦素浓度极显著小于对照组, 瘦素是一种主要由白色脂肪组织分泌的蛋白类激素 (Zhang *et al.*, 1994), 通过血液循环作用与下丘脑中的受体结合, 影响脑区与摄食相关神经肽的合成与释放, 可抑制摄食并促进产热 (Fink *et al.*, 2007)。在冷驯化条件下, 瘦素参与产热的调节, 低浓度的瘦素有利于防止由于产热导致的能量消耗进一步增加, 并且低浓度的瘦素有利于摄入能的增加, 有利于动物补偿能量的大量消耗。而高浓度的瘦素可以抑制食物摄取和增加能量消耗, 能量平衡出现负向调节 (Baskin *et al.*, 2001), 大绒鼠在脱冷驯化后, 瘦素浓度显著增加, 体重和摄入能降低 (杨盛昌等, 2012)。对大绒鼠 (Zhu *et al.*, 2010)、高山姬鼠 (Zhu *et al.*, 2011) 和布氏田鼠 (Tang *et al.*, 2010) 的研究发现, 在冷驯化条件下, 随着血清瘦素含量下降, 摄入量显著增加。中缅树鼯在冷驯化条件下, 低温诱导瘦素含量降低, 形成饥饿信号, 从而增加能量的摄入, 以补偿在冷环境下维持生存所需的能量。瘦素作为一种饥饿信号, 通过血液循环与下丘脑结合调节能量代谢 (Abelenda *et al.*, 2003)。在冷驯化下, 中缅树鼯血清瘦素的变化与大绒鼠、高山姬鼠、布氏田鼠一致, 这可能说明瘦素在哺乳动物调节模式的进化过程中存在保守性。

综上所述, 中缅树鼯作为东洋界热带亚热带特有类群, 在冷环境下, 通过增加体重, 增加 NPY 基因表达量、降低 CART 和 POMC 基因表达量以增加摄食量, 降低血清瘦素浓度来满足能量需求增加, 应对寒冷环境的胁迫。这种能量收支调节对策对于中缅树鼯适应横断山区特殊的气候具有重要意义。

参考文献:

- Abelenda M, Ledesma A, Bial E, Pucrla M. 2003. Leptin administration to cold acclimated rats reduce both food intake and brown adipose tissue thermogenesis. *Journal of Thermal Biology*, 28: 525 -

- 530.
- Ahima R S , Kelly J , Elmquist J K , Flier J S. 1999. Distinct physiologic and neuronal responses to decreased leptin and mild hyperleptinemia. *Endocrinology* , **140**: 4923 – 4931.
- Bartness T J , Elliott J A , Goldman B D. 1989. Control of torpor and body weight patterns by a seasonal timer in Siberian hamsters. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology* , **257** (1) : R142 – R149.
- Baskin D G , Blevins J E , Schwartz M W. 2001. How the brain regulates food intake and body weight: the role of leptin. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism* , **14** (6) : 1417 – 1429.
- Chen H , Charlat O , Tartaglia L A , Woolf E A , Weng X , Ellis S J , Lakey N D , Culpepper J , More K J , Breitbart R E , Duyk G M , Tepper R I , Morgenstern J P. 1996. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* , **84**: 423 – 434.
- Chen P , Li C , Haskell L C , Cone R D , Smith M S. 1999. Altered expression of agouti-related protein and its colocalization with neuropeptide Y in the arcuate nucleus of the hypothalamus during lactation. *Endocrinology* , **140**: 2645 – 2650.
- Chi Q S , Wang D H. 2011. Thermal physiology and energetics in male desert hamsters (*Phodopus roborovskii*) during cold acclimation. *Journal of Comparative Physiology B* , **181**: 91 – 103.
- Clement K , Vaisse C , Lahlou N , Cabrol S , Pelloux V , Cassuto D. 2004. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* , **392**: 398 – 401.
- Crott J W , Liu Z , Choi S W , Mason J B. 2007. Folate depletion in human lymphocytes up-regulates p53 expression despite marked induction of strand breaks in exons 5 – 8 of the gene. *Mutation Research* , **626**: 171 – 179.
- Del Valle J C , Busch C. 2003. Body composition and gut length of *Akodon azarae* (Muridae: Sigmodontinae): relationship with energetic requirements. *Acta Theriologica* , **48** (3) : 347 – 357.
- Elias C F , Aschkenasi C , Lee C , Kelly J , Ahima R S , Bjorbaek C , Flier J S , Saper C B , Elmquist J K. 1999. Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. *Neuron* , **23**: 775 – 786.
- Fink B D , Herlein J A , Almind K , Cinti S , Kahn C R , Sivitz W I. 2007. Mitochondrial proton leak in obesity-resistant and obesity-prone mice. *AJP Regulatory Integrative Comparative Physiology* , **293** (5) : R1773 – 1780.
- Friedman J M , Halaas J L. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* , **395**: 763 – 770.
- Gao W R , Zhu W L , Zhang D , Sun S R , Wang Z K. 2014. Effects of fasting and re-feeding on energy metabolism and thermogenesis in the tree shrew (*Tupaia belangeri*). *Animal Biology* , **64**: 31 – 47.
- Hahn T M , Breininger J F , Baskin D G , Schwartz M W. 1998. Coexpression of Agrp and NPY in fasting-activated hypothalamic neurons. *Nature Neuroscience* , **1**: 271 – 272.
- Hakansson M L , Brown H , Ghilardi N , Skoda R C , Meister B. 1998. Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus. *Journal of Neuroscience* , **18**: 559 – 572.
- Heldmaier G , Steinlechner S , Rafael J. 1982. Nonshivering thermogenesis and cold resistance during seasonal acclimation in the Djungarian hamster. *Journal Comparative Physiology B* , **149**: 1 – 9.
- Jiang W X , Wang B , Wang R , Wang Z K. 2009. The energy strategies of the *Apodemus chevieri* during cold exposure. *Chinese Journal of Zoology* , **44** (4) : 142 – 149. (in Chinese)
- Jiao G F , Li X N , He Y X. 2010. The research development of the hypothalamus and neuropeptide in obese formation mechanism. *Chinese Journal of Diabetes* , **18** (2) : 151 – 153. (in Chinese)
- Kotejia P , Krol E , Stalinski J. 1994. Maximum cold and lactation induced rate of energy assimilation in *Acomys cahirinus*. *Polish Ecological Studies* , **20**: 369 – 374.
- Kristensen , Judge M E , Thim L , Ribel U , Christjansen K N , Wulff B S , Clausen J T , Jensen P B , Madsen O D. 1998. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* , **393** (6680) : 72 – 76.
- Lei F , Xing D M , Sun H. 2002. The research of obesity biological factors. *Chinese Pharmaceutical Journal* , **37** (1) : 4. (in Chinese)
- Li R Y , Chen M D. 2001. The relationship between leptin and other regulate appetite peptide. *Foreign Medical Sciences* . **21** (4) : 197 – 199. (in Chinese)
- Li X S , Wang D H. 2005a. Regulation of body weight and thermogenesis in seasonally acclimatized Brandt's voles (*Microtus brandti*). *Hormones and Behavior* , **48**: 321 – 328.
- Li X S , Wang D H. 2005b. Seasonal adjustments in body mass and thermogenesis in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*): the roles of short photoperiod and cold. *Journal of Comparative Physiology B* , **175**: 593 – 600.
- Li X T , Zhu W L , Wang Z K. 2011. Seasonal changes of energy metabolism in *Tupaia belangeri*. *Acta Theriologica Sinica* , **31** (3) : 291 – 298. (in Chinese)
- Livak K J , Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* , **25** (4) : 402 – 408.
- Lovegrove B G. 2005. Seasonal thermoregulatory responses in mammals. *Journal Comparative Physiology B* , **175**: 231 – 247.
- Mizuno T M , Mobbs C U. 1999. Hypothalamic agouti-related protein messenger ribonucleic acid is inhibited by leptin and stimulated fasting. *Endocrinology* , **140** (2) : 814 – 817.
- Nagy T R , Negus N C. 1993. Energy acquisition and allocation in male collared lemmings *Dicrostonyx groenlandicus*: effects of photoperiod , temperature , and diet quality. *Physiological Zoology* , **66** (4) : 537 – 560.
- Nespolo R F , Bacigalupe L D , Sabat P , Bozinovic F. 2002. Interplay among energy metabolism , organ mass and digestive enzyme activity in the mouse-opossum *Thylamys elegans*: the role of thermal acclimation. *Journal of Experimental Biology* , **205**: 2697 – 2703.
- Ornatowska M , Azim A C , Wang X , Christman J W , Xiao L , Joo M ,

- Sadikot R T. 2007. Functional genomics of silencing TREM-1 on TLR4 signaling in macrophages. *AJP Lung Cellular and Molecular Physiology*, **293** (6): L1377-1384.
- Schwartz M W, Woods S C, Porte D J, Seeley R J, Baskin D G. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature*, **404**: 661-671.
- Sloan W D, Clark A B, Coleman K, Dearstyne T. 1994. Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution*, **9** (11): 442-446.
- Smith M S. 1993. Lactation alters neuropeptide-Y and proopiomelanocortin gene expression in the arcuate nucleus of the rat. *Endocrinology*, **133**: 1258-1265.
- Tang G B, Cui J G, Wang D H. 2010. Role of hypoleptinemia during cold adaptation in brandt's voles. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, **297**: 1293-1301.
- Tung Y C, Piper S J, Yeung D, O'Rahilly S, Coll A P. 2006. A comparative study of the central effects of specific proopiomelanocortin (POMC) derived melanocortin peptides on food intake and body weight in pomc null mice. *Endocrinology*, **147**: 5940-5947.
- Voltura M B, Wunder B A. 1998. Effects of ambient temperature, diet quality, and food restriction on body composition dynamics of the prairie vole, *Microtus ochrogaster*. *Physiol Zool*, **71**: 321-328.
- Xiao X Q, Grove K L, Lau S Y, McWeeney S, Smith M S. 2005. Deoxyribonucleic acid microarray analysis of gene expression pattern in the arcuate nucleus/ventromedial nucleus of hypothalamus during lactation. *Endocrinology*, **146**: 4391-4398.
- Yang S C, Dang Z G, Huang C M, Liu C Y, Zhu W L, Luo Q, Wang Z K. 2012. Variation of energy metabolism in *Eothenomys miletus* during cold acclimation and rewarming. *Chinese Journal of Zoology*, **47** (2): 120-126. (in Chinese)
- Zhang D, Zhang H, Zhu W L. 2014. Amplification of PRDM16, BMP7, PPAR α , COX II and PGC-1 α genes *Tupaia belangeri*. *Bioprocess*, **4**: 52-60. (in Chinese)
- Zhang L, Wang R, Yang F, Wang Z K, Gong Z M, Guo X G. 2009. Thermogenesis characteristics of cold adaptation of liver in *Tupaia belangeri*. *Chinese Journal of Zoology*, **44** (4): 47-57. (in Chinese)
- Zhang L, Zhang H, Zhu W L, Li X S, Wang Z K. 2012. Energy metabolism, thermogenesis and body mass regulation in tree shrew during subsequent cold and warm acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, **162**: 437-442.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Lepold L, Friedman J M. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, **372** (6505): 425-432.
- Zhao Z J, Wang D H. 2007. Effects of diet quality on energy budgets and thermo genesis in Brandt's voles. *Comparative Biochemistry Physiology A*, **148**: 168-177.
- Zhao Z J, Wang R R, Cao J. 2009. Plasticity of energy metabolism and behavior in mice under a random food restriction and recovery. *Sichuan Journal of Zoology*, **28** (6): 862-866. (in Chinese)
- Zhu W L, Cai J H, Zhang L, Wang Z K. 2014. Seasonal changes of body mass, serum leptin levels and hypothalamic neuropeptide express levels in *Tupaia belangeri*. *Journal of Biology*, **3**: 33-37. (in Chinese)
- Zhu W L, Jia T, Lian X, Wang Z K. 2010. Effects of cold acclimation on body mass, serum leptin level, energy metabolism and thermogenesis in *Eothenomys miletus* in Hengduan Mountains region. *Journal of Thermal Biology*, **35** (1): 41-46.
- Zhu W L, Wan B, Cai J H, Lian X, Wang Z K. 2011. Thermogenesis, energy intake and serum leptin in *Apodemus chevrieri* in Hengduan Mountains region during cold acclimation. *Journal of Thermal Biology*, **36** (3): 181-186.
- 朱万龙, 蔡金红, 张麟, 王政昆. 2014. 中缅树鼩体重、血清瘦素和下丘脑神经肽表达量的季节性变化, 生物学杂志, **31** (3): 33-37.
- 李荣英, 陈名道. 2001. 瘦素与其他调节食欲肽间的关系. 国外医学, **21** (4): 197-199.
- 李晓婷, 朱万龙, 王政昆. 2011. 中缅树鼩能量代谢的季节变化. 兽类学报, **31** (3): 291-298.
- 杨盛昌, 单振光, 黄春梅, 刘春燕, 朱万龙, 罗谦, 王政昆. 2012. 大绒鼠冷驯化和脱冷驯化能量代谢特征的变化. 动物学杂志, **47** (2): 120-126.
- 邹如金, 季维智, 严晔, 沙临力, 陆锦明, 杨克勤. 1991. 树鼩的饲养与繁殖. 见: 彭燕章, 叶智彰, 邹如金等著. 树鼩生物学. 昆明: 云南科技出版社, 71-130.
- 张麟, 王睿, 杨芳, 谢静, 王政昆, 龚正达, 郭宪国. 2009. 中缅树鼩肝在冷适应条件下的产热特征. 动物学杂志, **44** (4): 47-57.
- 赵志军, 王瑞瑞, 曹静. 2009. 随机限食与重喂食小鼠的能量代谢和行为的可塑性, 四川动物, **28** (6): 862-866.
- 姜文秀, 王蓓, 王睿, 王政昆. 2009. 冷驯化条件下高山姬鼠能量对策的初步研究. 动物学杂志, **44** (4): 142-149.
- 章迪, 张浩, 朱万龙. 2014. 中缅树鼩 PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II 及 PGC-1 α 基因的扩增研究. 生物过程, **4**: 52-60.
- 焦广发, 李秀楠, 何玉秀. 2010. 下丘脑和神经肽在肥胖形成机制中的研究进展. 中国糖尿病杂志, **18** (2): 151-153.
- 雷帆, 邢东明, 孙虹. 2002. 肥胖相关生物因子的研究. 中国药理学杂志, **37** (1): 4.