

# Ghrelin 在成年中国黄羽鹌鹑消化道中的定位

陈文明<sup>①</sup> 何敏<sup>①②\*</sup> 梁晓霞<sup>①</sup> 汪开毓<sup>①</sup> 方静<sup>①</sup>

陈正礼<sup>①</sup> 杨欢<sup>①</sup> 李雪<sup>①</sup>

① 四川农业大学动物医学院 雅安 625014; ② 四川农业大学科技管理处 雅安 625014

**摘要:** 为探讨 Ghrelin 免疫反应阳性细胞在成年中国黄羽鹌鹑 (*Coturnix japonica*) 消化道的分布规律及形态学特点。应用免疫组织化学 SABC 法对成年中国黄羽鹌鹑消化道各段 Ghrelin 阳性细胞进行定位和形态学研究; 利用 SPSS 17.0 软件, 对所得数据进行单因素 Dunnett 多重比较分析。结果显示, Ghrelin 阳性细胞在成年中国黄羽鹌鹑腺胃、十二指肠、空肠、回肠和盲肠均有分布, 其中在腺胃分布密度最高, 为  $30.70 \pm 6.50$ , 盲肠最低, 为  $1.70 \pm 1.56$ , 分布密度从腺胃至盲肠呈逐渐降低的趋势。Ghrelin 阳性细胞主要分布于腺胃腺叶细胞、肠道黏膜上皮细胞、肠腺上皮细胞和肠固有层之间, 细胞形态多为球形、长柱状和三角形。上述结果说明, Ghrelin 阳性细胞在成年中国黄羽鹌鹑消化道分布广泛, 根据其细胞形态推测中国黄羽鹌鹑消化道 Ghrelin 阳性细胞可能具有内分泌和外分泌功能。

**关键词:** 中国黄羽鹌鹑; 消化道; Ghrelin; 免疫组织化学

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2015) 04-628-07

## Identification of Ghrelin Cells in Digestive Tract of Adult Chinese Yellow Quail, *Coturnix japonica*

CHEN Wen-Ming<sup>①</sup> HE Min<sup>①②\*</sup> LIANG Xiao-Xia<sup>①</sup> WANG Kai-Yu<sup>①</sup> FANG Jing<sup>①</sup>

CHEN Zheng-Li<sup>①</sup> YANG Huan<sup>①</sup> LI Xue<sup>①</sup>

① *College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014;* ② *Technology Management Department of Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China*

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the distribution and morphological characteristics of the Ghrelin immunoreactive cells in the digestive tract of adult Chinese yellow quail (*Coturnix japonica*). Ten Chinese yellow quails (five males and five females) at 9-week old were killed by jugular vein bleeding, and every segment of the digestive tract was immediately fixed in neutral formalin. After fixation for 24 h, tissues were dehydrated, paraffin-embedded, sectioned into 5  $\mu\text{m}$  slices. Sections were stained with Immunohistochemistry SABC. The number of Ghrelin positive cells was evaluated in the every segment of the digestive tract using Nikon image analysis software, For each segment of the digestive tract, ten random

**基金项目** 四川省教育厅科研项目 (No. 13SZA0249, 10ZB035), 四川省科技厅应用基础计划项目 (No. 2014JY0113);

\* 通讯作者, E-mail: hemin09@163.com;

**第一作者介绍** 陈文明, 男, 硕士研究生; 研究方向: 组织胚胎学, E-mail: 0goldendream0@sina.com.

收稿日期: 2014-10-23, 修回日期: 2015-03-10 DOI: 10.13859/j.cjz.201504016

fields (at  $\times 400$  magnification) were analyzed. Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance, and Dunnett's test was employed for multiple comparisons (SPSS 17.0 software). The results showed that Ghrelin-positive cells were observed in the proventriculus, duodenum, jejunum, ileum and cecum (Fig. 1), with distribution densities of  $30.70 \pm 6.50$ ,  $26.90 \pm 5.10$ ,  $25.30 \pm 4.27$ ,  $11.40 \pm 4.14$  and  $1.70 \pm 1.56$ , respectively. There was a trend of gradual decrease from the proventriculus to the cecum. Ghrelin-positive cells were mainly distributed in the proventriculus leaves, intestinal epithelial cells, intestinal glandular epithelium and intestinal lamina propria. The shapes of Ghrelin-positive cells were spherical, long columnar and triangle. In conclusion, Ghrelin-positive cells are widely distributed in the digestive tract of adult Chinese yellow quail. The Ghrelin-positive cells in the digestive tract may have exocrine and endocrine functions.

**Key words:** Chinese yellow quail (*Coturnix japonica*); Digestive tract; Ghrelin; Immunohistochemistry

鹌鹑是鸟纲鸡形目稚科山鹑属中一种迁徙能力相对较弱的鸟类。鹌鹑主要分野生和家养的两大类。中国黄羽鹌鹑 (*Coturnix japonica*) 属于家养鹌鹑, 是朝鲜龙城系蛋用鹌鹑引入中国后, 由南京农业大学培育而成的 (杜金平等 2007, 吴艳等 2013)。作为国内蛋用鹌鹑种类之一, 其不仅具有丰富的营养价值和药用价值, 而且还具有生长发育快, 繁殖力强, 生长周期短, 饲料报酬高, 适应性广, 耐密集型饲养, 抗病力强等优点, 很受养殖户和消费者青睐。

Ghrelin 最早是 1999 年由日本学者 Kojima 等 (1999) 从大鼠 (*rattus norvegicus*) 胃组织提取物中分离纯化而来, 是由 28 个氨基酸组成的多肽, 是迄今为止发现的生长激素促分泌素受体 (growth hormone secretagogues receptor, GHSR) 的唯一天然内源性配体, 是继生长激素促释放激素 (growth hormone releasing hormone, GHRH) 和生长抑素 (somatostatin, SS) 外, 第三个调节生长激素 (growth hormone, GH) 分泌的主要激素。其主要由胃腺或胃黏膜皱襞内特定的内分泌细胞分泌 (Sakata et al. 2010), 具有调节生长激素分泌、摄食、能量代谢、胃肠运动和细胞增殖与凋亡等多种生物学作用 (Sirotkin et al. 2006, Kaiya et al. 2009, Nishi et al. 2011, Kitazawa et al. 2013)。Ghrelin 阳性细胞广泛分布于各类脊椎动物消化道中。对于哺乳动物, Vitari 等 (2012) 在猪 (*Susscrofa domestica*) 的胃、十二指肠、空肠、回肠和盲

肠, 张德敏等 (2012) 在山羊 (*Capra hircas*) 皱胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠和结肠, 蒋书东等 (2012) 在黑鹿 (*Muntiacus crinifrons*) 的十二指肠、空肠、回肠、盲肠和直肠中均发现有 Ghrelin 阳性细胞分布。在鱼类, 苏时萍等 (2013) 在长蛇鮈 (*Saurogobio dumerili*) 的前肠、中肠和后肠, 尹传龙 (2012) 在南方鲇 (*Silurus meridionalis*) 的整个胃肠道中均检测到 Ghrelin 阳性细胞。在爬行类, 周乃珍等 (2013) 仅在扬子鳄 (*Alligator sinensis*) 的胃中发现有 Ghrelin 阳性细胞分布。在两栖类, Kaiya 等 (2001) 发现 Ghrelin 阳性细胞在牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 的胃和小肠均有分布。关于禽类 Ghrelin 的组织分布, 李福宝等 (2007) 在皖西白鹅 (*Anser domestica*) 的十二指肠、空肠和回肠, Wang 等 (2009) 在非洲鸵鸟 (*Struthio camelus*) 的腺胃、肌胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠和直肠, Shao 等 (2010) 在北京鸭 (*Anas platyrhynchos var. domestica*) 腺胃的复管状腺上皮, 腺胃和肌胃交界处均发现有 Ghrelin 阳性细胞分布。本实验就 Ghrelin 在中国黄羽鹌鹑消化道的组织分布进行研究, 旨在观察 Ghrelin 阳性细胞在成年中国黄羽鹌鹑消化道的分布规律及形态学特点, 为中国黄羽鹌鹑的饲养管理提供参考资料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

9 周龄中国黄羽鹌鹑 10 羽, 雌雄各半, 购于成都新津养殖场。

## 1.2 样品采集

颈部动脉放血致死, 迅速取出口咽腔、食管、嗉囊、腺胃、肌胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、直肠和泄殖腔等各段, 迅速用生理盐水冲洗, 然后置于中性福尔马林中固定 24 h。

## 1.3 组织切片

取上述材料, 常规脱水透明, 石蜡包埋, 5  $\mu\text{m}$  连续切片, 每隔 3 张取 2 张, 贴于涂有多聚赖氨酸的载玻片上, 37 $^{\circ}\text{C}$  烘箱烘片 4 h, 再 60 $^{\circ}\text{C}$  烘箱烤片 1 h, 将切片分为 2 套, 分别为阴性对照组和 SABC 法免疫组化染色组。

## 1.4 免疫组织化学 SABC 法

常规组织切片脱蜡复水; 灭活内源性过氧化物酶: 将切片浸于 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  中 10 min, 蒸馏水洗 3 次, 每次 2 min; 抗原修复: 将切片浸于 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液 (pH 6.0), 于微波炉中加热至沸腾, 间隔 10 min 后, 反复 1 ~ 2 次, 冷却后用 PBS 洗涤 3 次, 每次 2 min; 血清封闭非特异性结合位点: 滴加 5% BSA 封闭液, 室温 20 min, 甩去多余的液体; 滴加一抗 (兔抗 Ghrelin, 1 : 200, 武汉博士德, BA1619), 4 $^{\circ}\text{C}$  冰箱孵育 17 h 左右, PBS 洗 3 次, 每次 2 min; 滴加二抗 (生物素化山羊抗兔 IgG, 1 : 100, 武汉博士德, SA2002), 37 $^{\circ}\text{C}$  30 min, PBS 洗 3 次, 每次 2 min; 滴加 SABC (SA2002, 武汉博士德), 37 $^{\circ}\text{C}$  30 min, PBS 洗 4 次, 每次 5 min; DAB (AR1022, 武汉博士德) 显色 10 min, 蒸馏水洗涤; 苏木素轻度复染, 脱水, 透明, 封片。显微镜观察, 阳性产物呈棕黄色, 阴性对照组则无阳性产物。对照组用 PBS 代替一抗, 其余步骤同上。

## 1.5 Ghrelin 免疫反应阳性细胞的观察与统计分析

各个部位随机选取 10 个 10  $\times$  40 倍视野, 应用 Nikon 显微成像系统拍照, 然后对 Ghrelin 阳性细胞进行计数, 结果以平均值  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 表示。利用 SPSS 17.0 软件, 对

所得数据进行 Duncan 多重比较。

## 2 结果

### 2.1 Ghrelin 免疫反应阳性细胞的组织学分布及形态特征

免疫组织化学染色切片, 背景无色或浅黄色。Ghrelin 免疫阳性反应为棕褐色或棕黄色颗粒, 分布于细胞质中, 细胞核内量少或无反应。阴性对照不显示免疫阳性反应, 细胞核由于苏木素的复染呈蓝色, 细胞质无色。本实验在 9 周龄中国黄羽鹌鹑的口咽腔、食管、嗉囊、肌胃、直肠和泄殖腔等部位未观察到阳性反应, 在腺胃、十二指肠、空肠、回肠和盲肠中均观察到 Ghrelin 免疫阳性反应。

腺胃: 腺胃中 Ghrelin 阳性细胞大多单个散在分布于腺胃深层复管状腺腺叶的单层立方上皮细胞, 少量位于腺胃黏膜上皮细胞; 细胞多呈球形或椭圆形 (图 1a), 与胃腔没有直接联系, 为“闭合型”细胞, 偶可见细胞周围有排出的阳性分泌物, 可通过弥散方式作用于邻近靶细胞; 少量呈长柱状 (图 1b), 通过细胞质顶点与胃腔相连, 为“开放型”细胞。

十二指肠: 十二指肠中 Ghrelin 阳性细胞主要分布于肠黏膜上皮细胞、固有层及肠腺上皮细胞, 其中在肠黏膜上皮细胞和肠腺上皮细胞分布量较多, 阳性物质集中于细胞质, 同时存在闭合型 (图 1c) 和开放型两种细胞 (图 1d)。

空肠: Ghrelin 阳性细胞在空肠中的分布与在十二指肠内的分布相似, 主要分布于肠黏膜上皮细胞、固有层及肠腺上皮细胞, 细胞多成球形 (图 1e)。

回肠: 回肠中 Ghrelin 阳性细胞主要分布于肠腺上皮细胞, 细胞多为三角形 (图 1f)、球形 (图 1f) 和长柱状 (图 1g)。

盲肠: 盲肠中 Ghrelin 阳性细胞的数量很少, 单个分布于固有层或肠腺上皮细胞, 形态多为球形 (图 1h)。

### 2.2 Ghrelin 免疫反应阳性细胞的分布密度

除口咽腔、食管、嗉囊、肌胃、直肠和泄

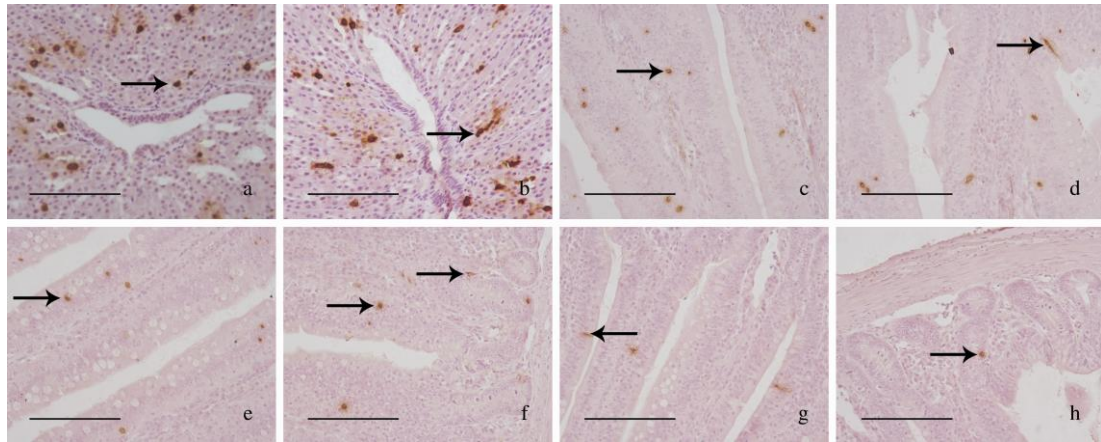


图 1 成年中国黄羽鹌鹑消化道 Ghrelin 细胞在各部位的分布位置和形态

Fig. 1 Location and morphology of Ghrelin cells in the digestive tract of adult Chinese yellow quail

a. 腺胃内呈球形的 Ghrelin 阳性细胞; b. 腺胃内呈长柱状的 Ghrelin 阳性细胞; c. 十二指肠内呈球形的 Ghrelin 阳性细胞; d. 十二指肠内呈长柱状的 Ghrelin 阳性细胞; e. 空肠内呈球形的 Ghrelin 阳性细胞; f. 回肠内呈球形、三角形的 Ghrelin 阳性细胞; g. 回肠内呈长柱状的 Ghrelin 阳性细胞; h. 盲肠内呈球形的 Ghrelin 阳性细胞; 箭头示目的细胞; 标尺 = 100  $\mu\text{m}$ 。

a. Spherical Ghrelin-positive cells in the proventriculus; b. Columnar Ghrelin-positive cells in the proventriculus; c. Spherical Ghrelin-positive cells in the duodenum; d. Columnar Ghrelin-positive cells in the duodenum; e. Spherical Ghrelin-positive cells in the jejunum; f. Spherical and triangle Ghrelin-positive cells in the ileum; g. Columnar Ghrelin-positive cells in the ileum; h. Spherical Ghrelin-positive cells in the cecum; Arrows indicate ghrelin-positive cells; bar = 100  $\mu\text{m}$ .

殖腔外, 在中国黄羽鹌鹑的腺胃、小肠各段及盲肠中均观察到 Ghrelin 阳性细胞。Ghrelin 阳性细胞在腺胃的分布密度最高, 为  $30.70 \pm 6.50$ , 十二指肠次之, 为  $26.90 \pm 5.10$ , 空肠的分布密度略低于十二指肠, 为  $25.30 \pm 4.27$ , 其次是回肠, 为  $11.40 \pm 4.14$ , 而在盲肠分布密度最低, 为  $1.70 \pm 1.56$ , 从腺胃到盲肠呈递减趋势。利用 SPSS 17.0 软件, 对所得数据进行单因素 Dunnett 多重比较分析, Ghrelin 阳性细胞在腺胃和十二指肠的分布密度差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 十二指肠和空肠的分布密度差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 空肠和回肠的分布密度差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 回肠与盲肠的分布密度差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 Ghrelin 免疫反应阳性细胞的分布特点

Ghrelin 广泛分布于各类脊椎动物消化道中, 但对于其在各脊椎动物消化道内的分布状

况, 不同种属间存在一定的差异。如李福宝等 (2007) 报道在皖西白鹅小肠各段均有 Ghrelin 阳性细胞分布, 魏凤梅等 (2010) 报道 Ghrelin 阳性细胞在岭南黄鸡 (*Gallus domesticus*) 的腺胃、十二指肠、空肠和回肠中有分布, 王悦等 (2010) 报道在长耳鸮 (*Asio otus*) 腺胃、十二指肠、空肠和回肠有 Ghrelin 阳性细胞分布, 而 Shao 等 (2010) 报道 Ghrelin 阳性细胞仅在北京鸭腺胃和腺胃肌胃交界处有分布。大量研究还表明, 多数动物 Ghrelin 细胞集中在胃体、胃幽门部, 如猪 (Vitari et al. 2012)、山羊 (张德敏等 2012)、北京鸭 (Shao et al. 2010)、岭南黄鸡 (魏凤梅等 2010)、荷那龙罗非鱼 (*Oreochromis hornorum*, 高风英等 2010)、比目鱼 (*Paralichthys olivaceus*, Breves et al. 2009) 和红耳龟 (*Trachemys scripta elegans*, Kaiya et al. 2004) 等; 少数动物也有例外, 如金鱼 (*Carassius auratus*, Unniappan et al. 2004) Ghrelin 细胞在肠道的分布密度最高。本研究发现, Ghrelin 阳

性细胞在中国黄羽鹌鹑腺胃内的分布密度最高,此结果与多数动物相一致。结合 Ghrelin 具有促进胃肠运动 (Perboni et al. 2010) 和保护胃黏膜 (Sibilia et al. 2003) 等功能,笔者推测 Ghrelin 阳性细胞在胃部的分布密度最高可能是因为胃是消化道行使消化功能的主要部位,需要大量的 Ghrelin 释放以促进胃的蠕动和保护胃黏膜等。此外,本研究结果同时显示,成年中国黄羽鹌鹑 Ghrelin 阳性细胞在消化道的分布密度从腺胃至盲肠呈递减趋势,这与 Wang 等 (2009) 对非洲鸵鸟的研究结果一致。成年中国黄羽鹌鹑 Ghrelin 阳性细胞主要分布于肠道黏膜上皮细胞、肠腺上皮细胞和肠固有层之间,推测从十二指肠至盲肠,肠绒毛和肠腺随肠段逐渐减少或消失可能是造成 Ghrelin 阳性细胞逐渐降低的原因。本研究在成年中国黄羽鹌鹑的肌胃内未发现 Ghrelin 阳性细胞分布。同样,在岭南黄鸡 (魏凤梅等 2010)、长耳鸮 (王悦等 2010)、北京鸭 (Shao et al. 2010) 的肌胃也未观察到 Ghrelin 阳性细胞,但在非洲鸵鸟 (Wang et al. 2009) 的肌胃内却检测到 Ghrelin 阳性细胞,对此, Wang 等 (2009) 认为非洲鸵鸟拥有发达的肌胃,消化管的消化能力比其他同龄动物强, Ghrelin 阳性细胞分布在肌胃可能与它消化管的发达有关。笔者认为 Ghrelin 阳性细胞的分布不仅与动物的种属有关,动物的食物成分、摄食方式、生活环境及消化作用都可能是影响 Ghrelin 阳性细胞分布的因素。非洲鸵鸟是世界上现存体型最大的鸟类,且食物比较匮乏。而笔者研究的中国黄羽鹌鹑相对于非洲鸵鸟食物则较为充足;此外,从目前的研究结果来看,在非高等脊椎动物 (鱼、两栖和爬行类) 中, Ghrelin 阳性细胞的分布与其生活环境有一定的相关性,至于中国黄羽鹌鹑消化道 Ghrelin 阳性细胞的分布是否与其生活环境有关还有待于进一步研究。本研究结果还显示,成年中国黄羽鹌鹑 Ghrelin 阳性细胞主要分布于腺胃胃叶和肠道各段黏膜层,在肠道的黏膜下层和肌层未观察到 Ghrelin 阳性细胞,而周旭

等 (2009) 在 3 日龄和 3 周龄非洲鸵鸟的小肠黏膜层、黏膜下层和肌层均观察到有 Ghrelin 阳性细胞分布。Baudet 等 (2003) 的研究表明 Ghrelin 无论是在体外还是在体内都具有促进禽类生长激素分泌的作用; Kheradmand 等 (2014) 也报道了 Ghrelin 具有促进细胞增殖和抑制细胞凋亡的作用。因此,笔者认为 Ghrelin 阳性细胞出现在 3 日龄和 3 周龄非洲鸵鸟的黏膜下层和肌层可能因为 3 周龄以前非洲鸵鸟的肠道发育还不完全,结构特征还不明显,而本研究所用 9 周龄中国黄羽鹌鹑消化道已发育成熟,因此未在黏膜下层和肌层观察到 Ghrelin 阳性细胞。

### 3.2 Ghrelin 免疫反应阳性细胞的形态和功能

消化道内分泌细胞通常可分为开放型细胞和闭合型细胞两种类型,开放型内分泌细胞多呈锥形或梭形,顶端有微绒毛伸入胃肠腔中,能感受胃肠腔中的化学刺激而行使外分泌功能。封闭型细胞呈圆形或椭圆形,无微绒毛,与消化管腔无直接接触,可感受局部组织内环境变化及胃肠腔内的压力刺激而释放相应的分泌物行使内分泌功能 (余锐萍 2003)。在本研究的中国黄羽鹌鹑消化道内 Ghrelin 细胞形态主要为球形、长柱状和三角形等。在腺胃处以球形为主,主要分布于腺胃复管状腺腺叶的单层立方上皮细胞内,呈典型的“闭合型”细胞形态;在十二指肠内 Ghrelin 细胞多分布于十二指肠黏膜上皮细胞和肠腺上皮细胞,多为球形和长柱状,“闭合型”和“开放型”两种细胞同时存在;在空肠 Ghrelin 细胞主要分布于肠黏膜上皮细胞、固有层及肠腺上皮细胞,细胞多成球形,呈典型的“闭合型”;在回肠中 Ghrelin 免疫反应阳性细胞主要分布于肠腺上皮细胞,细胞多为球形、三角形和长柱状,同时具有“闭合型”和“开放型”两种细胞,在盲肠中 Ghrelin 免疫反应阳性细胞的数量很少,单个分布于固有层或肠腺上皮细胞,形态多为球形,为“闭合型”细胞。根据 Ghrelin 细胞的形态推测成年中国黄羽鹌鹑消化道内的 Ghrelin 细胞可能既

具有内分泌功能又有外分泌功能。

## 参 考 文 献

- Baudet M L, Harvey S. 2003. Ghrelin-induced GH secretion in domestic fowl *in vivo* and *in vitro*. *Journal of Endocrinology*, 179(1): 97–105.
- Breves J P, Veillette P A, Specke J L. 2009. Ghrelin in the summer flounder: immunolocalization to the gastric glands and action on plasma cortisol levels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 152(2): 268–272.
- Kaiya H, Furuse M, Miyazato M, et al. 2009. Current knowledge of the roles of ghrelin in regulating food intake and energy balance in birds. *General and Comparative Endocrinology*, 163(1/2): 33–38.
- Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, et al. 2001. Bullfrog ghrelin is modified by n-octanoic acid at its third threonine residue. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(44): 40441–40448.
- Kaiya H, Sakata I, Kojima M, et al. 2004. Structural determination and histochemical localization of ghrelin in the red-eared slider turtle, *Trachemys scripta elegans*. *General and Comparative Endocrinology*, 138(1): 50–57.
- Kheradmand A, Dezfoulian O, Alirezaei M. 2014. Ghrelin is a Regulator of Cellular Apoptosis and Proliferation in the Rat Ovary. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 20(3): 289–298.
- Kitazawa T, Yoshida A, Tamano T, et al. 2013. Age-dependent reduction of ghrelin-and motilin-induced contractile activity in the chicken gastrointestinal tract. *Peptides*, 43: 88–95.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402(6762): 656–660.
- Nishi Y, Yoh J, Hiejima H, et al. 2011. Structures and molecular forms of the ghrelin-family peptides. *Peptides*, 32(11): 2175–2182.
- Perboni S, Inui A. 2010. Appetite and gastrointestinal motility: role of ghrelin-family peptides. *Clinical Nutrition*, 29(2): 227–234.
- Sakata I, Sakai T. 2010. Ghrelin cells in the gastrointestinal tract. *International Journal of Peptides*, 2010: Article ID 945056.
- Shao Y J, Liu S Q, Tang X Y, et al. 2010. Ontogeny of ghrelin mRNA expression and identification of ghrelin-immunopositive cells in the gastrointestinal tract of the Peking duck, *Anas platyrhynchos*. *General and Comparative Endocrinology*, 166(1): 12–18.
- Sibilia V, Rindi G, Pagani F, et al. 2003. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*, 144(1): 353–359.
- Sirotkin A V, Grossmann R, Mar á-Peon M T, et al. 2006. Novel expression and functional role of ghrelin in chicken ovary. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 257–258: 15–25.
- Unniappan S, Canosa L F, Peter R E. 2004. Orexigenic actions of ghrelin in goldfish: feeding-induced changes in brain and gut mRNA expression and serum levels, and responses to central and peripheral injections. *Neuroendocrinology*, 79(2): 100–108.
- Vitari F, Di Giancamillo A, Deponti D, et al. 2012. Distribution of ghrelin-producing cells in the gastrointestinal tract of pigs at different ages. *Veterinary Research Communications*, 36(1): 71–80.
- Wang J X, Peng K M, Liu H, et al. 2009. Distribution and developmental changes in ghrelin-immunopositive cells in the gastrointestinal tract of African ostrich chicks. *Regulatory Peptides*, 154(1/3): 97–101.
- 杜金平, 申杰, 皮劲松, 等. 2007. 蛋用鹌鹑黄羽系选育研究. *湖北农业科学*, 46(6): 960–962.
- 高风英, 王欢, 卢迈新, 等. 2010. 荷那龙罗非鱼 ghrelin cDNA 的克隆及表达特征. *华中农业大学学报*, 29(6): 752–757.
- 蒋书东, 戴书俊, 方富贵, 等. 2012. 黑鹿肝、小肠和大肠的组织学结构及 Ghrelin 的分布. *动物学杂志*, 47(1): 36–43.
- 李福宝, 方富贵, 李梅清, 等. 2007. Ghrelin 在成年皖西白鹅小肠内的免疫组化定位研究. *畜牧兽医学报*, 38(2): 206–208.
- 余锐萍. 2003. 弥散神经内分泌系统研究概论. *动物医学进展*, 24(1): 1–4.
- 苏时萍, 万全, 方石春, 等. 2013. 长蛇鮈肠道组织结构与 ghrelin 的分布定位. *安徽农业大学学报*, 40(2): 191–195.
- 王悦, 俞诗源, 高先军, 等. 2010. Bax, TGF- $\beta$  和 Ghrelin 在饥饿后长耳鸚胃及小肠中的免疫组织化学. *动物学杂志*, 45(3): 127–132.
- 魏凤梅, 李玉谷, 叶远兰, 等. 2010. Ghrelin 免疫反应阳性细胞在鸡外周器官中的定位分布与发育性变化. *畜牧兽医学报*,

- 41(3): 341–346.
- 吴艳, 皮劲松, 申杰, 等. 2013. 蛋用鹌鹑黄羽 II 系选育研究. 中国畜牧杂志, 49(3): 15–17.
- 尹传龙. 2012. 南方鲇 (*Silurus meridionalis*) Ghrelin 基因克隆及其 mRNA 表达研究. 重庆: 西南大学硕士学位论文.
- 张德敏, 王树迎, 尹玉涛, 等. 2012. Ghrelin 免疫阳性细胞在山羊胃肠道的发育性变化. 畜牧兽医学报, 43(7): 1042–1048.
- 周乃珍, 赵帅, 周永康, 等. 2013. 扬子鳄消化道 Ghrelin 免疫活性细胞的分布及其在冬眠期的密度变化. 中国组织化学与细胞化学杂志, 22(3): 212–216.
- 周旭, 徐立, 石芳萍, 等. 2009. Ghrelin 在鸵鸟小肠中的随龄性表达特点. 西北农业学报, 18(5): 48–52.