

瘦素在禽类中的研究进展

宋岳强 左正宏 王 诚 陈奕欣*

(厦门大学生命科学学院 厦门 361005)

摘要:瘦素(leptin)是一种主要作用于下丘脑的重要激素,起到调控摄食和能量消耗的作用。另外,国内外越来越多的研究表明,leptin与动物的代谢、发育、繁殖和免疫调节等均有密切的联系。但是上述研究大多在哺乳动物中进行,在禽类中的研究还在起步阶段。现有的研究表明,禽类的leptin及leptin受体的作用与哺乳动物相比都有其特殊性。本文首先分析了禽类leptin及leptin受体的特点,在此基础上,从摄食、生长发育和繁殖三个方面综述了leptin对禽类的作用及可能机制。

关键词:禽类;瘦素;研究进展

中图分类号:Q955 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2007)05-163-06

Research Progress on Leptin in Avian

SONG Yue-Qiang ZUO Zheng-Hong WANG Cheng CHEN Yi-Xin*

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Leptin is a hormone that primarily acts in the hypothalamus and plays an important role in the regulation of food intake and energy expenditure. In addition, many research revealed that leptin is related tightly to metabolism, growth, reproduction and immunological regulation. The function of leptin has been investigated in many organisms, mostly mammals and rarely birds. All the researches done on birds suggest that there are some differences in the expression and role of leptin and leptin receptor between mammals and birds. In this article, research progress of avian leptin, characteristic of avian leptin and leptin receptor, effect of leptin in avian feed behavior, growth and reproduction, and possible mechanism are reviewed.

Key words: Avian; Leptin; Research progress

瘦素(leptin)来源于希腊单词 leptos, 意思为消瘦,指的是这种分子有抵抗肥胖和调节摄食的作用,这也被认为是这种激素的最主要的作用。Leptin 是肥胖基因(obesity, ob)的产物,1994年Zhang利用定位克隆技术成功获得了小鼠ob全基因^[1]。迄今为止,已经有包括哺乳类、鸟类、两栖类和鱼类等许多物种的ob基因相继被成功克隆。在最近几年的研究中发现,脂肪组织分泌的leptin不仅起到将能量储备总量的信号传送到大脑的作用,而且还起到影响多种生理过程的激素作用,如影响免疫系统、内分泌系统、心血管系统和骨组织代谢,并且有可能和癌症等疾病的发生有关^[2]。对leptin生物

功能了解的深入,也让我们更进一步地认识到了脂肪组织不只是一个纯粹的储存能量的单位,而且与神经系统、内分泌系统和外周器官有着更为复杂的联系^[3]。但是,目前绝大多数leptin的研究都集中在了哺乳动物,尤其是啮齿动物上。由于禽类特别是家禽类的养殖对国民经济有重要的价值,leptin作为一种能参与体内

基金项目 国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 30400314);

* 通讯作者, E-mail: cheniyix@xmu.edu.cn;

第一作者介绍 宋岳强,男,博士研究生;研究方向:动物分子遗传学; E-mail: songyueqiang81@yahoo.com.cn;

收稿日期:2007-02-08, 修回日期:2007-06-29

能量代谢、改善生产性能的重要因子,在禽类中的研究也逐步开展起来。本文就禽类 leptin 及其受体、leptin 对调控禽类摄食、生长发育和繁殖的研究进展作一综述。

1 禽类 leptin 及其受体

迄今为止,禽类中鸡和家鸭 leptin 的 cDNA 已被成功克隆^[4]。leptin 分子在进化过程中具有较高的保守性,鸡 leptin 编码区 cDNA 同小鼠 leptin 编码区 cDNA 的同源性高达 95%,同其他物种的 leptin 编码区 cDNA 序列也有超过 80% 的同源性^[5]。家鸭 leptin 编码区 cDNA 同小鼠 leptin 编码区 cDNA 的同源性高达 98%,氨基酸序列同源性甚至高达 99%^[4]。除去 19 个氨基酸的信号肽,鸡成熟 leptin 蛋白共有 145 个氨基酸,不同于哺乳动物的 146 个氨基酸。与哺乳动物不同的是,鸡 leptin 成熟蛋白中有 1 个未配对的半胱氨酸。通过对鸡 leptin 基因表达的研究发现,鸡 leptin 在肝、脂肪和卵巢均有表达^[6],但在哺乳动物中,脂肪组织是 leptin 的主要合成场所,而鸡 leptin 的主要来源则是肝。鸡 leptin 基因在肝中表达,可能与禽类中肝是重要的脂肪酸合成和脂肪储存器官有关。

鸡 leptin cDNA 序列自从发表以来,就受到广泛的争议。Friedman-Einat 等^[7] 1999 年就对 Taouis 等^[5]得到的鸡 leptin cDNA 序列提出了异议,他们通过相同的克隆手段以及对鸡、火鸡 (*Meleagris gallopauo*)、日本鹌鹑 (*Coturnix japonica*)、鹅基因组的研究,并未发现其中有与小鼠 leptin 基因同源性如此高的基因。同样,李辉等^[8]也对鸡 leptin cDNA 序列与小鼠 leptin cDNA 序列如此高的同源性表示了怀疑。尽管鸡的 leptin cDNA 序列还不能得到一致承认,但鸡瘦素受体 (leptin receptor, LEPR) 基因的成功克隆^[9],从另一方面验证了鸡确实存在着与哺乳动物 leptin 结构相似并有类似功能的分子。而本研究小组在克隆家鸭的 leptin 基因过程中,在各个物种的 leptin cDNA 保守区内设计了 13 对引物,其中也包括了戴汉川等^[4]所采用的引物,利用 RT-PCR 手段,在提高了 RNA 质量、

优化了 PCR 程序后也没有得到家鸭 leptin 基因,而利用各个物种的 leptin 氨基酸序列高保守区设计的多克隆抗体在家鸭多个组织的 western 杂交中,也未能获得杂交信号。但是,在后来的实验中,却发现给家鸭注射小鼠 leptin 重组蛋白,又能表现出相应的功能。因此,对禽类 leptin 序列的特殊性还需要进一步的工作来阐明。

Tartaglia 等^[10]于 1995 年首次从小鼠脉络丛 cDNA 文库中成功克隆出 LEPR 基因。LEPR 属于 I 型细胞因子受体超家族,这个家族中还包括白细胞介素 6 受体 (interleukin-6 receptor, IL-6R)、白血病抑制因子受体 (leukemia inhibitory factor receptor, LIFR) 和粒细胞集落刺激因子受体 (granulocyte-colony stimulating factor receptor, G-CSFR) 等。通过对 LEPR mRNA 转录过程中的选择性剪切,LEPR 在体内表现为多种异构体。目前,在小鼠中已经发现 6 种 LEPR 异构体: LEPR-a, b, c, d, e, f^[11]。所有的 LEPR 异构体在氨基端都共有-一个相同的胞外配体结合区域。除了 LEPR-e 缺少跨膜区和胞质区而以可溶性受体存在外,其余异构体都享有一个相同的胞外区和跨膜区,但胞质区的长度有所不同。这些异构体中只有长受体 LEPR-b 包含了激活 JAK-SATA 信号传导途径所必需的一段胞质区模体和一个疏水氨基酸残基,是 leptin 的重要功能性受体,其余异构体都被称为短受体,短受体被认为有调控 leptin 转运进脑的作用,并可激活 JAK-MAPK 传导途径。禽类中继鸡的 LEPR 基因被成功克隆以后,火鸡的 LEPR 基因也被成功克隆^[12],但是目前在禽类中仅发现 2 种异构体,即长受体和短受体^[13]。鸡 leptin 长受体 cDNA 全长 3 908 bp,编码 1 148 个氨基酸的蛋白。在比较了鸡 leptin 长受体与哺乳动物 leptin 长受体后发现,在核苷酸水平上,约有 60% 的同源性,而在氨基酸水平上,约有 50% 的同源性。但从蛋白质的空间结构看,鸡 leptin 长受体与小鼠 LEPR-b 的空间结构很相似,并且具有相应的功能结构域。鸡 leptin 长受体在各组织均有表达,在卵巢和脑垂体中表达尤为显

著,可能也通过激活 JAK-STAT 途径来调节摄食、生长发育和繁殖等生理作用。而鸡 leptin 短受体结构与哺乳动物 LEPR-a 空间结构相似,但并不像哺乳动物 LEPR-a 那样在体内各组织均有高表达,鸡 leptin 短受体仅在垂体、卵巢等少数组织有少量表达,它的生理功能尚不明确。

2 leptin 与禽类的摄食

leptin 作为一种过饱因子对动物的食物摄入有重要作用。近几年来,对 leptin 对哺乳动物食物摄入的作用已经有了比较深入的研究。用小鼠 leptin 注射 *ob* 基因缺陷型(*ob/ob*)小鼠,约 75% 的摄食被抑制,而用重组小鼠 leptin 蛋白注射普通小鼠,也能抑制约 20% 的摄食^[14]。

近几年的研究表明,leptin 与禽类的摄食也有重要的关系。利用放射免疫测定表明,在喂食条件下,17 月龄鸡的血浆中 leptin 浓度显著高于禁食后血浆中 leptin 浓度^[15]。而 Denbow 等^[16]研究表明,通过脑室内注射重组人 leptin 蛋白,能在 3 h 内显著抑制 4 周龄和 7 周龄的肉鸡和白来亨鸡的摄食水平。Lohmus 等^[17]的研究也表明,通过胸肌注射鸡重组 leptin 蛋白,注射后 20 min 内大山雀(*Parus major*)的摄食被显著抑制,且摄食速度明显减慢。在禁食后 2 h 的老龄蛋鸡中,腹腔内注射绵羊或鸡重组 leptin 蛋白会引起食物摄入量 11% ~ 34% 的明显减少,并且这种效果会持续 5 h^[18]。

但是,另一些研究却得到了不同的结果。Bungo 等^[19]将重组小鼠 leptin 蛋白注入 1 日龄鸡脑室内,却没有观察到鸡食物摄入量的变化。而通过肌肉注射重组小鼠 leptin 蛋白也没有影响日本鹌鹑的摄食水平^[20]。这些矛盾结果的产生可能是由于 leptin 的来源、实验动物的选择和注射方式的不同。Cassy 等^[21]的研究表明,腹腔内注射重组鸡 leptin 蛋白(1 $\mu\text{g/g}$ 体重)显著抑制 56 日龄蛋鸡的摄食(38%),抑制 9 日龄蛋鸡的摄食(15%),对 9 日龄的肉鸡则毫无作用。因此可能在禽类中也存在着一种 leptin 抵抗机制,不同品种或者不同日龄的禽类对 leptin 的敏感性也不同。而某些肉鸡的高食物

摄入量和高生长率可能就与对体内一些降低食欲的因子(例如 leptin)不太敏感有关。

通过研究 leptin 对哺乳动物摄食的调控机理发现,leptin 可以通过抑制下丘脑的神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY, 一种刺激动物摄食的强有力的诱导因子)的表达来抑制摄食。leptin 能通过下丘脑的 leptin 受体来抑制 NPY 的表达,从而达到降低采食量的效果^[22]。另外,leptin 还可以调节减少下丘脑中阿黑素原(proopiomelanocortin, POMC)的表达量,从而调节黑素皮质受体(melanocortin receptor, MCR)的作用,而 MCR3 和 MCR4 的主要作用就包括调节摄食和能量平衡。因此,leptin 也可以通过这一途径抑制摄食^[23]。虽然目前 leptin 调控禽类摄食的机制尚不明了,但在鸡的下丘脑中 LEPR 基因的高表达说明 leptin 在禽类中调控摄食的机制可能与哺乳动物类似。Dridi 等^[24]发现,在 3 周龄的肉鸡中,leptin 显著抑制下丘脑的 LEPR、NPY、肥胖素(orexin, ORX)和肥胖素受体(orexin receptor, ORXR)的表达水平,但是不抑制下丘脑中的豚鼠(*Cavia porcellus*)相关蛋白(agouti-related protein, AGRP, 一种主要的促食肽和合成代谢因子)。有趣的是,与分解代谢和抑制食欲有关的神经肽 POMC 及促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)的表达水平在经过 leptin 处理后并未受到影响。因此,在禽类中 leptin 可能是选择性地调节与合成代谢有关的神经肽,而调节分解代谢途径的作用不强。

3 leptin 与禽类生长发育

肥胖与生长激素(growth hormone, GH)的异常分泌有关,并且在肥胖的动物中血浆中的 GH 结合蛋白比正常动物少。GH 不仅是个体生长和发育所必需的,通过作用于能量代谢途径也对机体的构成和脂肪组成有重要的影响^[25]。同时 leptin 受体基因在下丘脑弓形核和室周上表达,同时这也是生长激素抑制素(somatostatin, SS)和生长激素释放激素(growth hormone releasing hormone, GHRH)的分泌位点。虽然,

leptin 对动物生长的作用机制还不完全清楚,但是下丘脑中存在 leptin 受体的表达,说明 leptin 在下丘脑水平对 GH 的表达有着一定作用。有实验表明,在对猪脑室内注射 leptin 后,不仅能降低摄食量,而且能增加 GH 的分泌^[26]。

在禽类中, GH 也与 leptin 的分泌有一定的联系。在鸡中, 7 d 规律地注射 GH 能增加肝中 leptin 基因的表达^[27]。通过对鸡生长过程中 leptin 基因表达的研究, 在 1 ~ 12 周龄内, 肉鸡中肝和脂肪的 leptin 基因表达是逐步增加的。而在生长初期, 也就是快速生长阶段的 1 ~ 5 周内, 肝的 leptin 基因的表达与体重呈线性相关, 进一步说明了禽类中 leptin 基因的表达与禽类的生长有着密切的联系^[28]。

leptin 不仅与禽类的生长有着密切的联系, 对禽类胚胎的发育也有着重要的作用。由于禽类的胚胎是在一个独立的状态下发育, 并没有受到母体的影响, 因此是研究 leptin 对胚胎发育影响的良好模型。正如在哺乳动物胎盘中检测到 leptin 基因表达一样, Ashwell 等^[29]在 17 日龄鸡胚的肝、卵黄囊、心和脾中检测到了 leptin 基因的表达, 表明 leptin 可能对鸡胚胎发育起到一定的作用。此外, 已有研究发现, 重组小鼠 leptin 蛋白对培养的鸡胚胎肌细胞及胚胎肝细胞的增殖和蛋白合成有促进作用^[30], 表明 leptin 在胚胎形成发育过程的内分泌和旁分泌途径中可能起到一定的影响。Lamosova 和 Macajova 等^[31, 32]用重组小鼠 leptin 蛋白注射日本鹌鹑的胚胎, 发现经过 leptin 处理后, 日本鹌鹑的出壳时间明显早于对照组 5 ~ 24 h, 并且在体重上也高于对照组, 体重上的优势状态一直持续到性成熟。通过进一步的研究发现, leptin 处理胚胎后还影响了鹌鹑出壳后的三碘甲状腺原氨酸(T3)、四碘甲状腺原氨酸(T4)和脂质水平, 因此推测, leptin 可能通过影响禽类胚胎的内分泌环境来促进胚胎的发育。

4 leptin 与禽类繁殖

在许多家养动物中, 繁殖能力都受到营养状况的影响。在鸡饲养中, 摄食量的过度增加

和肥胖会影响产蛋率, 为了增高产蛋率, 常常要采取限饲的办法。而不同的激素, 包括 GH、胰岛素样生长因子-I (insulin-like growth factor, IGF-I) 和胰岛素(insulin)都被认为有调控繁殖的作用。虽然代谢和生殖内分泌之间的联系还没有完全清楚, 但是随着 leptin 的研究逐步地深入, 在哺乳动物中研究发现, LEPR 广泛分布于生殖轴。下丘脑、垂体促性腺细胞^[33]和卵巢颗粒细胞^[34]上均有 LEPR 的存在, 之后在鸡生殖轴的 LEPR 表达的研究中, 也发现同样的结果。这使我们认识到 leptin 也可能是一个联系代谢与生殖内分泌之间的纽带。

Chehab 等^[35]通过研究发现, 用重组小鼠 leptin 蛋白注射雌性小鼠, 注射组的生长速率明显低于未注射 leptin 组, 但是初情期却提早了 9 d。leptin 还能防止由于禁食引起的雌性小鼠和大鼠的排卵期的推迟, 因而 leptin 可能在初情期的启动中起到一个代谢枢纽的作用^[36]。

同样的, 在对日本鹌鹑的研究中也发现了类似现象。在胚胎期用重组小鼠 leptin 蛋白处理日本鹌鹑, 能引起雄性日本鹌鹑性成熟期的提前, 且睾酮(testosterone)浓度也显著高于对照组。而用 leptin 处理的雌性日本鹌鹑产蛋期有所提前, 且产蛋率也比对照组高^[32]。Paczoska-Eliasiewicz 等^[37]通过对 17 周龄的母鸡皮下注射重组鸡 leptin 蛋白, 发现处理组的产蛋期比对照组也显著提前。在激素水平上, leptin 处理能引起促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(oestradiol, E₂)和孕酮(progesterone, P₄)的分泌高峰期提前。

leptin 可以减弱由于禁食对卵巢功能造成的负面效应。给禁食的鸡注射重组鸡 leptin 蛋白, 可以延长产蛋期, 同时还可以削弱卵黄囊的衰退和减缓卵泡细胞的凋亡^[38]。Paczoska-Eliasiewicz 等^[37]的研究也表明, leptin 对由于限饲作用而引起的鸡卵泡细胞的凋亡有减缓作用, 并能促进卵泡生成。另外, 本研究小组在近期的实验中发现, 对禁食 2 d 后重新喂食的雌性高产金定鸭静脉注射鼠重组 leptin 蛋白, 当注射量为 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重·d 时可以显著加快受

损卵巢功能的恢复,表现为卵巢重量和递次卵泡发育的恢复,血清中 E_2 浓度的恢复和卵泡细胞凋亡的改善。

但是,邵西兵等^[39]通过利用鸡 leptin 重组蛋白免疫 240 日龄的粤黄鸡种母鸡,却得到了不同的实验结果。他们观察到,处理组的血液 leptin 水平高于对照组,但是产蛋率却低于对照组。因而体内过高的 leptin 水平也可能抑制生殖活动,他们推测可能是由于 leptin 对卵泡发育的局部抑制引起的。

Cassy 等^[40]指出,在鸡卵泡分化过程中,卵巢颗粒细胞中 leptin 受体 mRNA 表达水平会下降。在一种高生长速率基因型的肉鸡中,任意喂食会使其繁殖功能紊乱,卵巢颗粒细胞 leptin 表达水平会上升。而如果限制进食,会在一定程度上恢复卵泡的分化,期间卵巢颗粒细胞 leptin 受体表达水平会下降。leptin 受体水平的变化表明 leptin 可能参与了调控卵泡的分化。

因此,在禽类中,可能也通过调控 leptin 受体的表达来完成 leptin 作为营养和繁殖之间的纽带作用。我们知道,生物体内的 leptin 水平与营养状况有着密切的联系。一方面,体内的 leptin 可能通过作用于下丘脑和垂体,引起 leptin 受体水平的变化,从而调控促性腺激素释放激素和促性腺激素的分泌,进一步调控性腺性激素的分泌。另一方面,leptin 可以直接与性腺中的 leptin 受体结合,调控性激素的分泌。无论是直接调控作用还是间接调控作用,leptin 无疑是一种重要的繁殖调控因子,对提高禽类的产蛋率具有重要意义。

5 展 望

自从 leptin 基因在小鼠中被克隆出来,国内外对 leptin 的研究,尤其在哺乳动物中,成为一个热点。但是 leptin 在禽类中的研究远远落后于在哺乳动物中的研究,而且多是集中在 leptin 对禽类摄食、生长发育和繁殖的初步研究上,leptin 调控禽类生殖生理活动的机制尚未明了。原因可能有两个:第一,对禽类中已克隆的 leptin 基因的正确性尚存在争议,国内外多个实

验室无法重复克隆,影响了在大范围内对禽类 leptin 研究;第二,在禽类中,尚未发现有 *ob/ob* 基因缺陷型的品系,这也影响 leptin 调控禽类生理活动的研究。

不论从肉用还是蛋用性能看,禽类特别是家禽的养殖都具有很高的经济价值。而 leptin 作为一种影响肉质性状的候选基因,又是影响动物的生长发育和繁殖的重要因子,加大 leptin 在禽类中的研究力度具有很重要的意义。今后对禽类 leptin 的研究可以从下面几个方向进行:第一,进一步克隆出其他常见禽类特别是家禽的 leptin 基因序列,揭示禽类 leptin 基因及其表达的特殊性;第二,进一步深入 leptin 对禽类摄食、生长发育及繁殖调控的研究,揭示其确切的调控机制;第三,根据 leptin 在哺乳动物中已进行的研究,还可以进行 leptin 对禽类免疫系统作用的研究,以期发挥 leptin 在禽类抗病力上的可能作用。

参 考 文 献

- [1] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994, 372 (6 505): 425 ~ 432.
- [2] Woo H Y, Park H, Ki C S, et al. Relationships among serum leptin, leptin receptor gene polymorphisms, and breast cancer in Korea. *Cancer Lett*, 2006, 237(1): 137 ~ 142.
- [3] Harvey J, Ashford M L J. Leptin in the CNS: much more than a satiety signal. *Neuropharmacology*, 2003, 44(7): 845 ~ 854.
- [4] 戴汉川, 龙良启. 鸭肥胖基因的分子克隆序列分析及原核表达. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(7): 641 ~ 647.
- [5] Taouis M, Chen J W, Daviaud C, et al. Cloning the chicken leptin gene. *Gene*, 1998, 208(2): 239 ~ 242.
- [6] 施振旦, 邵西兵, 方梅霞等. 家鸡 Leptin 成熟肽 cDNA 的克隆、重组蛋白表达及纯化. *中国兽医学报*, 2004, 24 (3): 258 ~ 260.
- [7] Friedman-Einat M, Boswell T, Horev G, et al. The chicken leptin gene: Has it been cloned? *Gen Comp Endocrinol*, 1999, 115(3): 354 ~ 363.
- [8] 李辉, 顾志良, 赵建国. 鸡瘦蛋白基因克隆的若干问题研究. *东北农业大学学报*, 2004, 35(6): 72 ~ 78.
- [9] Horev G, Einat P, Aharoni T, et al. Molecular cloning and properties of the chicken leptin-receptor (CLEPR) gene. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 162(1 - 2): 95 ~ 106.
- [10] Tartaglia L A, Dembski M, Weng X, et al. Identification and

- expression cloning of a leptin receptor. *OB-R. Cell*, 1995, **83** (7): 1 263 ~ 1 271.
- [11] Hegyi K, Fulop K, Kovacs K, *et al.* Leptin-induced signal transduction pathways. *Cell Biol Int*, 2004, **28**(3): 159 ~ 169.
- [12] Richards M P, Poch S M. Molecular cloning and expression of the turkey leptin receptor gene. *Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol*, 2003, **136**(4): 833 ~ 847.
- [13] Liu X, Dunn I C, Sharp P J, *et al.* Molecular cloning and tissue distribution of a short form chicken leptin receptor mRNA. *Domest Anim Endocrinol*, 2007, **32**(3): 155 ~ 166.
- [14] Mercer J G, Moar K M, Rayner D V, *et al.* Regulation of leptin receptor and NPY gene expression in hypothalamus of leptin-treated obese (*ob/ob*) and cold-exposed lean mice. *FEBS Lett*, 1997, **402**(2-3): 185 ~ 188.
- [15] Dridi S, Williams J, Bruggeman V, *et al.* A chicken leptin-specific radioimmunoassay. *Domest Anim Endocrinol*, 2000, **18** (3): 325 ~ 335.
- [16] Denbow D M, Meade S, Robertson A, *et al.* Leptin-induced decrease in food intake in chickens. *Physiol Behav*, 2000, **69** (3): 359 ~ 362.
- [17] Lohmus M, Sundstrom L F, El Halawani M, *et al.* Leptin depresses food intake in great tits (*Parus major*). *Gen Comp Endocrinol*, 2003, **131**(1): 57 ~ 61.
- [18] Dridi S, Raver N, Gussakovskiy E E, *et al.* Biological activities of recombinant chicken leptin C4S analog compared with unmodified leptins. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*, 2000, **279** (1): 116 ~ 123.
- [19] Bungo T, Shimojo M, Masuda Y, *et al.* Intracerebroventricular administration of mouse leptin does not reduce food intake in the chicken. *Brain Res*, 1999, **817**(1-2): 196 ~ 198.
- [20] Macajova M, Lamosova D, Zeman M. Physiological effects of leptin, insulin and triamcinolone on adult male Japanese quail. *Acta Vet BRNO*, 2003, **72**(4): 515 ~ 522.
- [21] Cassy S, Picard M, Crochet S, *et al.* Peripheral leptin effect on food intake in young chickens is influenced by age and strain. *Domest Anim Endocrinol*, 2004, **27**(1): 51 ~ 61.
- [22] Wang Q, Bing C, AlBarazanji K, *et al.* Interactions between leptin and hypothalamic neuropeptide Y neurons in the control of food intake and energy homeostasis in the rat. *Diabetes*, 1997, **46**(3): 335 ~ 341.
- [23] Abbott C R, Rossi M, Kim M, *et al.* Investigation of the melanocyte stimulating hormones on food intake. Lack of evidence to support a role for the melanocortin-3-receptor. *Brain Res*, 2000, **869**(1-2): 203 ~ 210.
- [24] Dridi S, Swennen Q, Decuyper E, *et al.* Mode of leptin action in chicken hypothalamus. *Brain Res*, 2005, **1 047**(2): 214 ~ 223.
- [25] Wauters M, Considine R V, Van Gaal L F. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol*, 2000, **143**(3): 293 ~ 311.
- [26] Barb C R, Yan X, Azain M J, *et al.* Recombinant porcine leptin reduces feed intake and stimulates growth hormone secretion in swine. *Domest Anim Endocrinol*, 1998, **15**(1): 77 ~ 86.
- [27] Ashwell C M, McMurtry J P, Wang X H, *et al.* Effects of growth hormone and pair-feeding on leptin mRNA expression in liver and adipose tissue. *Domest Anim Endocrinol*, 1999, **17** (1): 77 ~ 84.
- [28] Ashwell C M, Richards M P, McMurtry J P. The ontogeny of leptin mRNA expression in growing broilers and its relationship to metabolic body weight. *Domest Anim Endocrinol*, 2001, **21** (3): 161 ~ 168.
- [29] Ashwell C M, Czerwinski S M, Brocht D M, *et al.* Hormonal regulation of leptin expression in broiler chickens. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*, 1999, **276**(1): 226 ~ 232.
- [30] Lamosova D, Zeman M. Effect of leptin and insulin on chick embryonic muscle cells and hepatocytes. *Physiol Res*, 2001, **50** (2): 183 ~ 189.
- [31] Lamosova D, Macajova M, Zeman M, *et al.* Effect of in ovo leptin administration on the development of Japanese quail. *Physiol Res*, 2003, **52**(2): 201 ~ 209.
- [32] Macajova M, Lamosova D, Zeman M. Role of leptin in Japanese quail development. *Acta Vet BRNO*, 2002, **71**(4): 473 ~ 479.
- [33] Jin L, Zhang S, Burguera B G, *et al.* Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells. *Endocrinology*, 2000, **141**(1): 333 ~ 339.
- [34] Karlsson C, Lindell K, Svensson E, *et al.* Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, **82**(12): 4 144 ~ 4 148.
- [35] Chehab F F, Mounzih K, Lu R, *et al.* Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science*, 1997, **275**(5 296): 88 ~ 90.
- [36] Cheung C C, Thornton J E, Kuijper J L, *et al.* Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat. *Endocrinology*, 1997, **138**(2): 855 ~ 858.
- [37] Paczoska-Elisiewicz H E, Proszkowiec-Weglarz M, Proudman J, *et al.* Exogenous leptin advances puberty in domestic hen. *Domest Anim Endocrinol*, 2006, **31**(3): 211 ~ 226.
- [38] Paczoska-Elisiewicz H E, Gertler A, Proszkowiec M, *et al.* Attenuation by leptin of the effects of fasting on ovarian function in hens (*Gallus domesticus*). *Reproduction*, 2003, **126** (6): 739 ~ 751.
- [39] 邵西兵, 施振旦, 于迎春等. 鸡 Leptin 基因正确性的免疫验证. *动物学研究*, 2005, **26**(2): 168 ~ 173.
- [40] Cassy S, Metayer S, Crochet S, *et al.* Leptin receptor in the chicken ovary: potential involvement in ovarian dysfunction of ad libitum-fed broiler breeder hens. *Reprod Biol Endocrinol*, 2004, **2**: 72 ~ 79.