

# 高山姬鼠下丘脑神经肽表达量的季节性变化

朱万龙<sup>①</sup> 陈金龙<sup>②</sup> 王政昆<sup>①</sup>

<sup>①</sup>云南师范大学生命科学学院, 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 昆明 650500;

<sup>②</sup>昆明市海口林场 昆明 650000

**摘要:** 为阐明高山姬鼠 (*Apodemus chevrieri*) 下丘脑神经肽表达量在季节性变化条件下对其体重调节的作用, 测定了不同季节高山姬鼠的体重、体脂含量、食物摄入量以及血清瘦素浓度和神经肽 Y(NPY)、刺鼠相关蛋白 (AgRP)、阿片促黑色素原 (POMC) 和可卡因-安他非明转录调节肽 (CART) 表达量。采用食物平衡法测定高山姬鼠的食物摄入量, 体脂含量用索氏抽提法进行测定, 采用实时荧光 PCR 仪测定下丘脑神经肽表达量。采用单因素方差分析或协方差分析进行检验, 相关性采用 Pearson 相关分析。高山姬鼠的体重和体脂均出现了季节性变化, 冬季较低, 夏季较高。食物摄入量季节性差异显著, 冬季较高, 夏季最低。血清瘦素含量也出现了季节性变化, 与体脂变化趋势类似, 瘦素含量与脂肪含量呈正相关关系。下丘脑神经肽 NPY、AgRP、POMC 和 CART 表达量季节性差异显著。食物摄入量与 NPY 和 AgRP 负相关, 与 POMC 和 CART 正相关。以上结果表明, 高山姬鼠在季节性变化过程中冬季降低体重、体脂, 增加摄入量来维持生存。瘦素通过作用于下丘脑神经肽基因来调节高山姬鼠的体重平衡。

**关键词:** 高山姬鼠; 体重调节; 下丘脑神经肽

**中图分类号:** Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 05-817-09

## Seasonal Variations of Hypothalamic Neuropeptide Expression in Chevrier's Field Mouse (*Apodemus chevrieri*)

ZHU Wan-Long<sup>①</sup> CHEN Jin-Long<sup>②</sup> WANG Zheng-Kun<sup>①</sup>

<sup>①</sup> Key Laboratory of Ecological Adaptive Evolution and Conservation on Animals-Plants in Southwest Mountain Ecosystem of Yunnan Province

Higher Institutes College, School of Life Sciences of Yunnan Normal University, Kunming 650500;

<sup>②</sup> Kunming Haikou Forest Farm, Kunming 650000, China

**Abstract:** The aim of the present study was to examine the effects of hypothalamic neuropeptide genes expression on body mass regulation under seasonal variations in Chevrier's Field Mouse (*Apodemus chevrieri*). Body mass, body fat mass, food intake, serum leptin levels and hypothalamic neuropeptide Y (NPY), agouti-related peptide (AgRP), pro-opiomelanocortin (POMC) and cocaine and amphetamine regulated transcript peptide (CART) expression were measured in Chevrier's Field Mouse. Food intake was measured by food equity, body fat was extracted from the dried carcass by ether extraction in

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 31260097, 31560126), 云南师范大学博士科研启动项目;

**第一作者介绍** 朱万龙, 男, 副教授; 研究方向: 动物生理生态; E-mail: zwl\_8307@163.com.

收稿日期: 2016-01-11, 修回日期: 2016-04-07 DOI: 10.13859/j.cjz.201605011

a Soxhlet apparatus, hypothalamic neuropeptides genes expression was measured by real-time q-PCR. Data were analyzed using One-way ANOVA or One-way ACNOVA, and associations were judged by Pearson-correlation analysis. The results showed that body mass and body fat mass showed seasonal variations, higher in summer and lower in winter (Fig. 1), and food intake also showed significant seasonal variability, higher in winter and lower in summer (Fig. 1). Serum leptin level also had similar seasonal variation, showing similar trend as body fat mass (Fig. 2), and serum leptin level showed a positive correlation with body fat mass (Fig. 3). Expression of hypothalamic neuropeptide NPY, AgRP, POMC and CART showed significant seasonal differences (Fig. 4). The above results suggest that Chevrier's Field Mouse reduces body mass, body fat mass, increases food intake to survive in winter under seasonal changes. Leptin may play a regulatory role in body mass by acting on hypothalamic neuropeptide in Chevrier's Field Mouse.

**Key words:** Chevrier's Field Mouse, *Apodemus chevrieri*; Body mass regulation; Hypothalamus neuropeptide

动物的表型可塑性变化是指动物表型性状应对环境变化所表现出来形态、生理或者行为等方面可塑性变化的能力 (Piersma et al. 2003)。近些年来, 小型哺乳动物表型可塑性的变化可以从各个层次进行研究, 如酶学水平 (Sabat et al. 2000) 到组织水平 (Villarin et al. 2003), 器官水平到个体水平 (Kristan et al. 2006)。研究表明, 小型哺乳动物的能量获得和能量消耗受环境因素影响 (Naya et al. 2005)。许多研究证实小型哺乳动物的能量代谢具有季节性变化 (Smith et al. 2008), 其中生理特征的变化在动物的体温调节过程中起着非常重要的作用 (Dawson 2003)。小型哺乳动物体重的平衡取决于能量的获得和支出 (Bozinovic 1992)。已有研究表明, 小型哺乳动物在面对低温或者冬季寒冷环境时会降低体重和体脂含量并增加能量摄入 (McNab 1995), 如布氏田鼠 (*Microtus brandti*) (Li et al. 2005)、长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*) (Zhang et al. 2007)、黑线毛足鼠 (*Phodopus sungorus*) (Petri et al. 2014) 和黑线仓鼠 (*Cricetulus barabensis*) (Zhao et al. 2010)。

瘦素是一种由白色脂肪组织分泌的蛋白质激素, 进入血液循环参与体重调节 (Friedman et al. 1998)。瘦素作为一种脂类信号分子参与动物的能量代谢, 调节食物摄入 (Barb et al. 2004, Silva 2006)。它在动物的能量摄入和能

量支出转换过程中有着重要作用 (Friedman et al. 1998)。下丘脑在小型哺乳动物的能量稳态调控过程中也起重要作用, 下丘脑参与能量代谢调控主要表现在与能量相关的神经肽含量变化 (Ruth 2014)。在下丘脑中存在两类神经肽, 促食类神经肽包括神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY)、刺鼠相关蛋白 (agouti-related peptide, AgRP), 抑食类神经肽包括阿片促黑色素原 (pro-opiomelanocortin, POMC) 和可卡因-安他非明转录调节肽 (cocaine and amphetamine regulated transcript peptide, CART), 这两类神经肽可以表达出瘦素 OB-Rb 受体, 瘦素与其受体结合, 抑制神经肽的合成、释放, 从而降低食欲, 主要表现为抑制 NPY/AgRP 神经元通路, 刺激 POMC/CART 神经元通路 (Tung et al. 2006)。动物在负能量平衡条件下 (如饥饿或者怀孕), 往往会降低瘦素含量和能量消耗, 增加食物摄入, 同时增加 NPY/AgRP 表达量, 降低 POMC/CART 表达量 (Xiao et al. 2005)。欧洲仓鼠 (*Cricetus cricetus*) 在季节性变化过程中会改变 NPY 的表达量, 从而改变其活动节律和体重平衡 (Ribelayga et al. 1998)。在季节性变化过程中, 动物会通过改变瘦素含量来调整 AgRP 的表达量, 如高浓度的瘦素可以明显降低 AgRP 表达量, 从而使动物的食欲下降, 抑制进食 (Kitamura et al. 2006)。在季节性模拟驯化实验中, 动物在较高的温度条件下其

POMC 的表达量显著增加, 从而抑制进食 (Endo et al. 2004)。CART 表达量的变化在黑线毛足鼠体重和能量代谢的季节性变化过程中起着重要的作用 (Khorrooshi et al. 2008)。我国学者也对一些小型啮齿类动物在季节性、不同温度或食物条件下下丘脑神经肽的调节作用进行了研究, 如布氏田鼠 (Tang et al. 2009)、达乌尔黄鼠 (*Spermophilus dauricus*) (Xing et al. 2015)、昭通绒鼠 (*Eothenomys olitor*) (Zhu et al. 2015) 和黑线仓鼠 (Zhao et al. 2014)。

高山姬鼠 (*Apodemus chevrieri*) 属于鼠亚科, 又名齐氏姬鼠, 是典型的古北界种类 (Zhu et al. 2008)。之前的研究表明, 高山姬鼠的体重、产热能力和能量收支具有季节性变化 (Zhu et al. 2012)。本研究在之前的研究基础上, 测定其下丘脑神经肽表达量的季节性变化, 阐明下丘脑神经肽表达量在其体重调节中的作用, 以确定高山姬鼠对横断山区的适应策略。

## 1 研究方法

### 1.1 动物来源

高山姬鼠是于 2013 年 3 月、6 月、9 月和 12 月 (分别以春、夏、秋、冬表示) 捕自云南省昆明市呈贡区大学城后山 (北纬 24°50', 东经 102°01') 的农田和灌木丛中。捕捉的动物带回云南师范大学生命科学学院 (昆明) 动物饲养房饲养, 置于透明鼠盒 (26 cm × 16 cm × 15 cm) 内单盒饲养, 中度光照 (12L:12D, 即光照和黑暗各 12 h), 温度控制在 (25 ± 1)°C; 每日喂以标准饲料 (昆明医科大学生产), 用塑料瓶供水, 可以自由取食和饮水。实验动物为非繁殖期成年个体。选取实验动物春季 7 只 (3♀, 4♂)、夏季 8 只 (4♀, 4♂)、秋季 6 只 (3♀, 3♂) 和冬季 6 只 (2♀, 4♂), 捕回 4 d 内测定体重和食物摄入量, 实验后处死动物, 测定体脂含量、下丘脑神经肽基因表达量及瘦素含量。

### 1.2 食物摄入量测定

采用食物平衡法测定高山姬鼠的食物摄入

量 (Zhu et al. 2012), 单只高山姬鼠放入代谢笼内 (20 cm × 15 cm × 15 cm)。定时定量给高山姬鼠喂食, 即实验前一天的 11:00 ~ 13:00 时喂食约 10 g 标准饲料, 第二天称量高山姬鼠体重, 并在 11:00 ~ 13:00 时收集剩余食物。收集的剩余食物在烘箱中烘干至重量不变, 高山姬鼠每日食物摄入量为食物供给量与剩余食物量之差。

### 1.3 体脂重量的测定

体脂含量用索氏抽提法使用 Soxtec<sup>TM</sup>2043 型浸提仪 (福斯公司) 进行测定。将动物尸体的内脏去除, 消化道上的脂肪保留, 放于烘箱中至重量不变 (60°C), 用小型粉碎机将样品粉碎混匀, 称取 2 g 左右的样品用干燥滤纸包严、烘干、称重, 此时的重量记为  $a$ , 放入含有 50% ~ 67% 体积乙醚的抽提瓶中, 滤纸包的高度低于虹吸管, 水浴 (70°C) 加热、回流, 乙醚回流次数控制在 120 ~ 150 滴/h, 回流时间约为 5 h, 抽提完毕, 取出的滤纸烘干、称重, 此时的重量记为  $b$ , 样品中的脂肪含量 =  $a - b$  (Zhu et al. 2012)。

### 1.4 血清瘦素含量的测定

实验后处死实验动物并取血, 取出的血液在 4°C 静置 1 h, 于 4°C 4 000 r/min 离心 30 min, 取上层血清置于 -80°C 超低温冰箱保存。血清瘦素含量采用美国 Linco 公司生产的瘦素放射免疫分析试剂盒进行测定 (Zhu et al. 2012)。

### 1.5 下丘脑神经肽基因表达量的测定

高山姬鼠的下丘脑总 RNA 参照高纯总 RNA 快速抽提试剂盒 (BioTeke Co.) 提供的方法进行提取与纯化。采用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的纯度和完整性。提取和纯化的 RNA 置于 -80°C 的超低温冰箱保存。cDNA 第一链的合成以下丘脑总 RNA 为模板, Oligo(dT)<sub>18</sub> 为反转录引物, 按照 M-MLV Frist Strand Kit 试剂盒 (Invitrogen Co.) 提供方法进行。反应体系为: 10 mg/L RNA 模板 8 μl, 10 mmol/L dNTP 1 μl, 50 g/L Oligo (dT) 1 μl, 0.1 mol/L DTT 2 μl, 5 × 第一链合成缓冲液 4 μl, 2 × 反转录酶 1 μl,

RNase ddH<sub>2</sub>O 3 μl, 总反应体系 20 μl。反应产物于 -20℃ 条件下保存。NPY、AgRP、POMC、CART 及内参基因 cDNA 核心序列的扩增引物参照文献中的引物 (Zhang et al. 2015)。以上述 cDNA 第一链为模板进行 RT-PCR, 反应体系 25 μl, 模板 (10 mg/L) 1 μl, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 2 μl, 上下游引物 (10 mmol/L) 各 1 μl, Taq 酶 (4 U/μl) 0.5 μl, ddH<sub>2</sub>O 16 μl。PCR 反应条件: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 30 s, 54~56℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1.5 min, 37 个循环。RT-PCR 产物以 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测。

采用 ABI-7000TM 实时荧光 PCR (FQ-PCR) 仪扩增模板 cDNA, 并检测荧光信号。FQ-PCR 反应体系 20 μl, KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix (2 ×) 10 μl, 上下游引物 (200 nmol/L) 各 0.4 μl, 模板 1.8 μl, 超纯水 7.4 μl。反应条件, 95℃ 预变性 3 min; 95℃ 变性 3 s, 60℃ 退火 30 s, 30 个循环; 溶解曲线阶段 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s。

采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  公式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,  $\Delta\Delta CT = (CT_{\text{处理组目的基因}} - CT_{\text{处理组内参基因}}) - (CT_{\text{对照组目的基因}} - CT_{\text{对照组内参基因}})$ , 目的基因的  $2^{-\Delta\Delta CT}$  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后相对于对照样本的表达倍数 (差异) (Livak et al. 2001), 对于对照样本 (春季组),  $\Delta\Delta CT = 0$ ,  $2^{-\Delta\Delta CT} = 1$ , 对于处理组 (夏季、秋季和冬季组) 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。

### 1.6 数据处理

采用 SPSS13.0 软件包进行实验数据的统计分析。数据经过正态分布和方差齐次性检验, 符合参数检验条件。不同性别高山姬鼠的生理指标差异不显著, 因此所有数据合并。动物的体重季节性差异采用 One-Way ANOVA 检验。体脂、食物摄入量、血清瘦素和下丘脑神经肽表达量的季节性差异均采用 One-Way ANOVA 检验, 以体重作为协变量。血清瘦素

含量与体脂含量、食物摄入量, 食物摄入量与下丘脑神经肽表达量的关系采用 Pearson 相关分析。数值均以平均值 ± 标准误 (Mean ± SE) 表示,  $P < 0.05$  表示差异显著,  $P < 0.01$  表示差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 体重、体脂和食物摄入量

高山姬鼠的体重季节性差异极显著 ( $F_{3,23} = 5.15$ ,  $P < 0.01$ , 图 1), 冬季体重较低, 夏季体重较高。高山姬鼠的体脂季节性差异极显著 ( $F_{3,22} = 60.87$ ,  $P < 0.01$ , 图 1), 冬季体脂较低, 夏季体脂较高。高山姬鼠的食物摄入量季节性变化差异极显著 ( $F_{3,22} = 12.47$ ,  $P < 0.01$ , 图 1), 食物摄入量在冬季较大, 而在夏季较小。

### 2.2 血清瘦素含量和下丘脑神经肽表达量

高山姬鼠血清瘦素含量的季节性差异极显著 ( $F_{3,22} = 18.45$ ,  $P < 0.01$ , 图 2), 瘦素含量在冬季较低, 而在夏季较高。季节性变化过程中高山姬鼠的瘦素含量与脂肪重量呈正相关关系 ( $r = 0.709$ ,  $P < 0.01$ , 图 3)。高山姬鼠下丘脑神经肽 NPY、AgRP、POMC 和 CART 表达量季节差异极显著 (NPY:  $F_{3,22} = 34.46$ ,  $P < 0.01$ ; AgRP:  $F_{3,22} = 24.35$ ,  $P < 0.01$ ; POMC:  $F_{3,22} = 6.10$ ,  $P < 0.01$ ; CART:  $F_{3,22} = 7.03$ ,  $P < 0.01$ , 图 4), 食物摄入量与 NPY、AgRP 表达量呈正相关关系 (NPY:  $r = 0.642$ ,  $P < 0.01$ ; AgRP:  $r = 0.589$ ,  $P < 0.01$ ), 与 POMC、CART 表达量呈负相关关系 (POMC:  $r = -0.467$ ,  $P < 0.05$ ; CART:  $r = -0.624$ ,  $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

动物表型可塑性的高低代表了动物对环境适应的能力的大小 (Bush et al. 2008)。很多研究表明在季节性变化过程中, 动物在冬季会降低自身的体重和体脂含量, 增加能量摄入和产热能力 (Steinlechner et al. 1983), 如黑线毛足鼠 (Lovegrove 2005)。本研究中, 高山姬鼠体重表现出明显的季节性变化, 冬季的体重显著

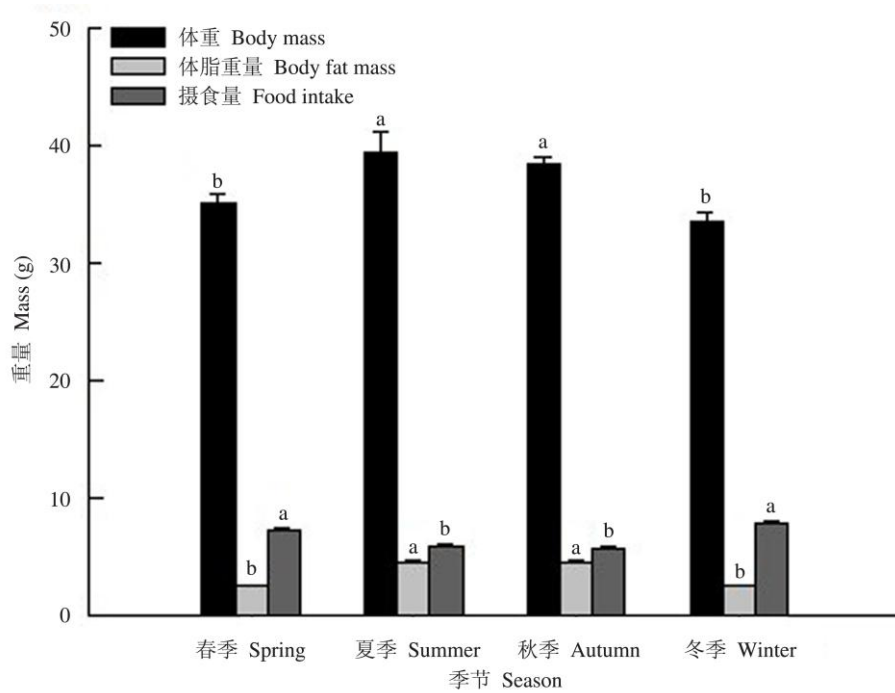


图 1 不同季节高山姬鼠的体重、体脂重量和食物摄入量的变化

Fig. 1 Seasonal changes in body mass, body fat mass and food intake in Chevrier's Field Mouse

不同的字母代表不同季节间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Means with the different superscripts are significantly different in different seasons ( $P < 0.05$ ).

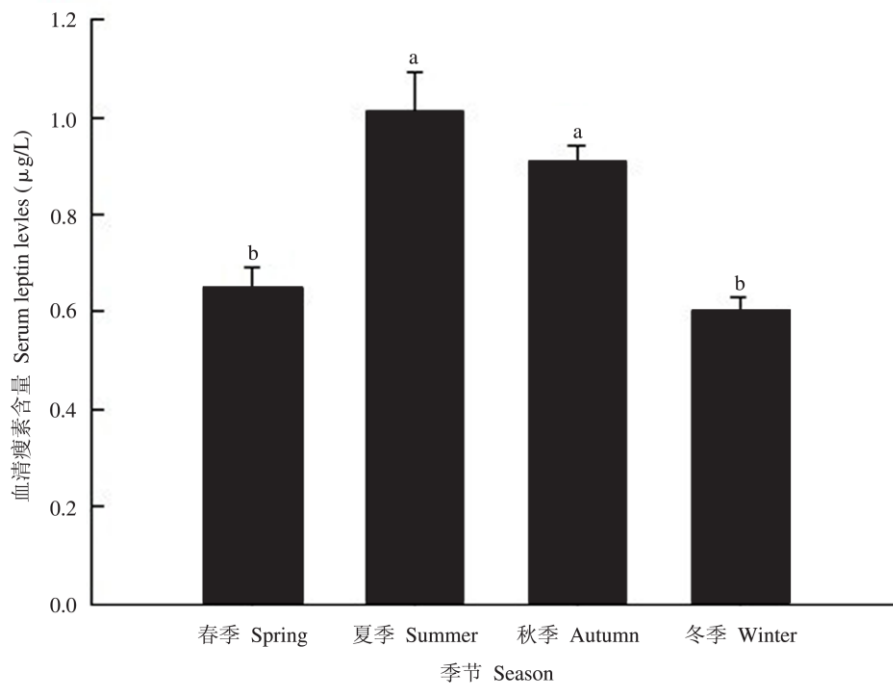


图 2 不同季节高山姬鼠的瘦素含量变化

Fig. 2 Seasonal changes in leptin levels in Chevrier's Field Mouse

不同的字母代表差异显著 ( $P < 0.05$ )。Means with the different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

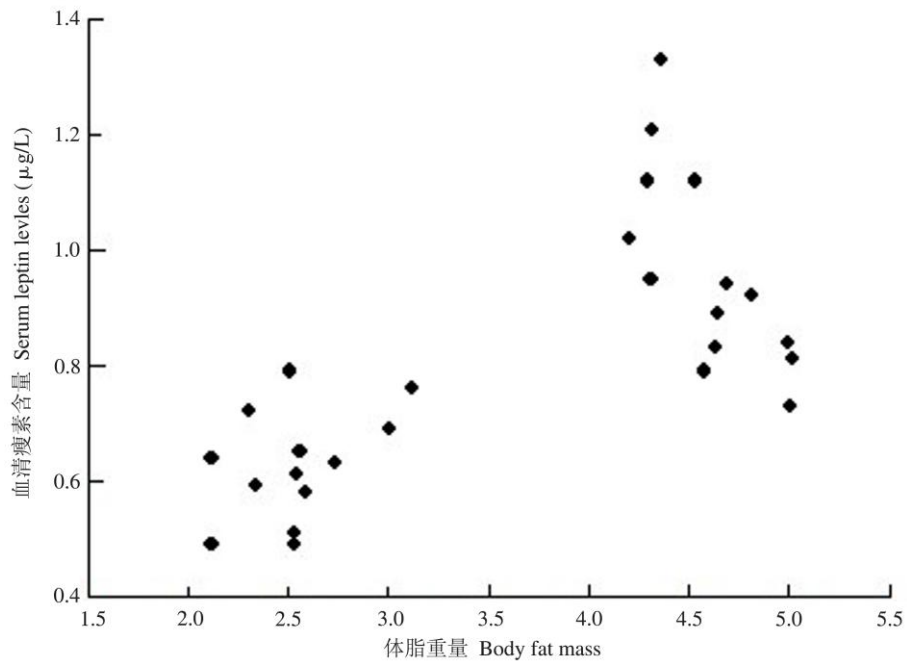


图 3 高山姬鼠季节性变化过程中瘦素含量与体脂相关图

Fig. 3 Correlation of serum leptin levels with body fat mass in Chevrier's Field Mouse in different seasons

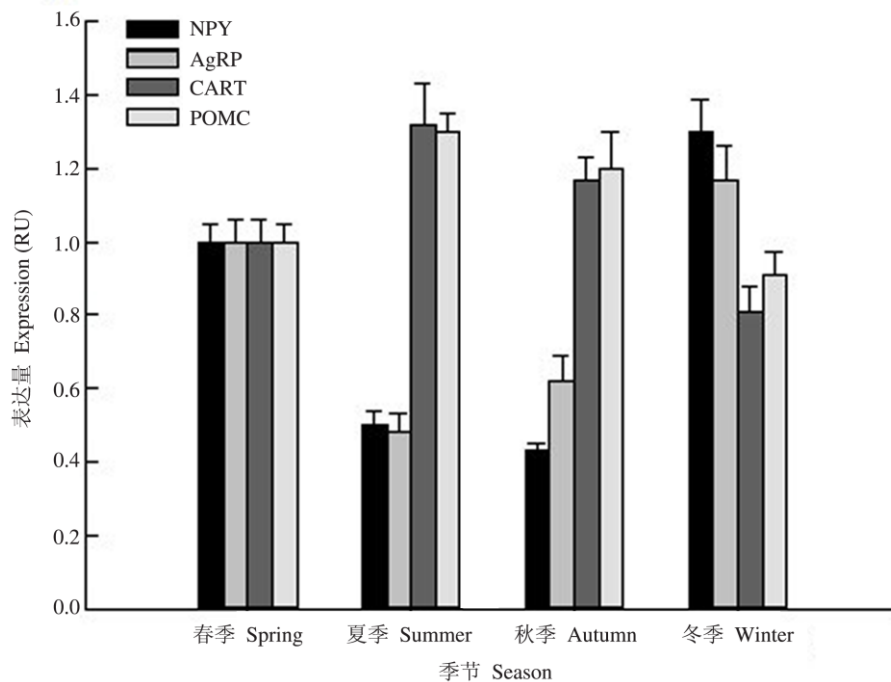


图 4 不同季节高山姬鼠的 NPY、AgRP、POMC 和 CART 表达量变化

Fig. 4 Seasonal changes in NPY, AgRP, POMC and CART expression in Chevrier's Field Mouse

小于夏季,这可能是因为冬季能量消耗增加, 动物需要降低体重来减少绝对能耗。此外,冬

季食物资源的缺乏和食物质量的降低也是导致其体重较低的原因之一。高山姬鼠的体脂重量也表现出明显的季节性变化, 冬季体脂含量显著小于夏季, 冬季体脂较少与低温和食物资源质量较差有关, 说明在冬季高山姬鼠需要动用体内储存的脂肪来弥补产热的增加 (Mercer 1998)。高山姬鼠的食物摄入量与体重、体脂变化趋势相反, 食物摄入量在冬季显著增加, 显著高于夏季, 这可能与冬季温度较低, 产热能力增加, 高山姬鼠需要大量进食来弥补能量消耗的增加。之前的研究表明, 高山姬鼠在季节性变化过程中冬季会显著增加静止代谢率和非颤抖性产热 (Zhu et al. 2012), 高山姬鼠必须通过增加食物摄入量来维持生存。当食物摄入量的增加不足以弥补产热的消耗时, 高山姬鼠需要动用体内脂肪, 最终使得在冬季其体重和体脂含量下降。

血清瘦素含量可以反映动物体内脂肪的含量, 瘦素可以和下丘脑作用来调节小型哺乳动物的食物摄入和能量支出 (Coleman 1978, Michael et al. 2000)。已有研究表明, 瘦素含量与脂肪含量呈正相关关系 (Bozinovic et al. 2004, Zhang et al. 2006), 在本研究中也得到了这一结果, 高山姬鼠的血清瘦素含量与体脂重量呈正相关关系。瘦素参与了小型哺乳动物能量摄入的调节 (Barb et al. 2004), 本研究结果显示, 高山姬鼠的瘦素含量和食物摄入量均出现了季节性变化, 而且瘦素含量的变化与食物摄入量的相反, 二者呈负相关关系, 说明冬季低浓度的瘦素可以促进高山姬鼠的食物摄入, 而夏季高浓度的瘦素抑制了高山姬鼠的进食。此外, 下丘脑在高山姬鼠体重调节中也起着重要的作用。研究表明, 啮齿类动物在季节性变化过程中通过调节 NPY 的表达量来影响其能量稳态 (Kitamura et al. 2006), 高浓度的瘦素可以明显降低 AgRP 表达量, 从而抑制动物的进食 (Endo et al. 2004); 非洲跳鼠 (*Jaculus orientalis*) 的 NPY 表达量在季节性变化过程中也会发生变化, 最终影响其体重和能量代谢

(Lakhdar-Ghazal et al. 1995)。本研究中, 高山姬鼠的 NPY、AgRP、POMC 和 CART 的表达量均出现了季节性变化, 其中 NPY 和 AgRP 表达量在冬季较高, 而夏季较低, 这主要是因为 NPY 和 AgRP 的高表达可以促进高山姬鼠的食欲, 增加食物摄入, 这也是高山姬鼠在冬季食物摄入量增加的原因。相反, 在夏季食物相对充足, 温度条件相对较好, 高山姬鼠的 POMC 和 CART 表达量显著增加, 从而抑制高山姬鼠的进食, 表现出在夏季食物摄入量较低。此外, 在冬季保持较高浓度的 POMC 和 CART 表达量, 可以刺激产热能力的增加 (Zhao et al. 2014)。从相关性分析来看, 食物摄入量与下丘脑 4 个神经肽基因表达量也存在相关关系, 说明下丘脑神经肽参与调节高山姬鼠的体重和食物摄入。

综上, 高山姬鼠在季节性变化过程中, 冬季降低体重和体脂, 增加食物摄入量, 降低血清瘦素含量。而瘦素主要通过调节下丘脑神经肽 NPY/AgRP 和 POMC/CART 通路来调节其体重和能量代谢的变化。

## 参 考 文 献

- Barb C R, Kraeling R R. 2004. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Animal Reproduction Science*, 82(1): 155–167.
- Bozinovic F. 1992. Rate of basal metabolism of grazing rodents from different habitats. *Journal of Mammalogy*, 73(2): 379–384.
- Bozinovic F, Bacigalupe L D, Vasquez R A, et al. 2004. Cost of living in free-ranging degus (*Octodon degus*): seasonal dynamics of energy expenditure. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 137(3): 597–604.
- Bush N G, Brown M, Downs C T. 2008. Seasonal effects on thermoregulatory responses of the Rock Kestrel, *Falco rupicolis*. *Journal of Thermal Biology*, 33(7): 404–412.
- Coleman D L. 1978. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia*, 14(3): 141–148.
- Dawson W R. 2003. Plasticity in avian responses to thermal

- challenges—an essay in honor of Jacob Marder. *Israel Journal of Zoology*, 49(2): 95–109.
- Endo D, Park M K. 2004. Molecular characterization of the leopard gecko POMC gene and expressional change in the testis by acclimation to low temperature and with a short photoperiod. *General and Comparative Endocrinology*, 138(1): 70–77.
- Friedman J M, Halaas J L. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395(6704): 763–770.
- Khorooshi R, Helwig M, Werckenthin A, et al. 2008. Seasonal regulation of cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the arcuate nucleus of Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *General and Comparative Endocrinology*, 157(2): 142–147.
- Kitamura T, Feng Y, Kitamura Y I, et al. 2006. Forkhead protein mediates AgRP dependent effects of leptin on food intake. *Nature Medicine*, 12(5): 534–540.
- Kristan D M, Hammond K A. 2006. Effects of three simultaneous demands on glucose transport, resting metabolism and morphology of laboratory mice. *Journal of Comparative Physiology*, 176(2): 139–151.
- Lakhdar-Ghazal N, Oukouchoud R, P  vet P. 1995. Seasonal variation in NPY immunoreactivity in the suprachiasmatic nucleus of the jerboa (*Jaculus orientalis*), a desert hibernator. *Neuroscience Letters*, 193(1): 49–52.
- Li X S, Wang D H. 2005. Regulation of body weight and thermogenesis in seasonally acclimatized Brandt's voles (*Microtus brandtii*). *Hormones and Behavior*, 48(3): 321–328.
- 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 of Comparative Physiology*, 175(4): 231–247.
- McNab B K. 1995. Energy expenditure and conservation in frigidorous and mixed diet carnivorans. *Journal of Mammalogy*, 76(1): 206–222.
- Mercer J G. 1998. Regulation of appetite and body weight in seasonal mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 119(3): 295–303.
- Michael W S, Stephen C W, Danlel P, et al. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404(7109): 661–671.
- Naya D E, Bacigalupe L D, Bustamante D M, et al. 2005. Dynamic digestive responses to increased energy demands in the leaf-eared mouse (*Phyllotis darwini*). *Journal of Comparative Physiology*, 175(1): 31–36.
- Petri I, Dumbell R, Scherbarth F, et al. 2014. Effect of exercise on photoperiod-regulated hypothalamic gene expression and peripheral hormones in the seasonal dwarf Hamster *Phodopus sungorus*. *PLoS ONE*, 9: e90253.
- Piersma T, Drent J. 2003. Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(5): 228–233.
- Ribelayga C, P  vet P, Simonneaux V. 1998. Possible involvement of neuropeptide Y in the seasonal control of hydroxyindole-O-methyltransferase activity in the pineal gland of the European hamster (*Cricetus cricetus*). *Brain Research*, 801(1/2): 137–142.
- Ruth B S. 2014. Direct and indirect effects of leptin on adipocyte metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA): Molecular Basis of Disease*, 1842(3): 414–423.
- Sabat P, Bozinovic F. 2000. Digestive plasticity and the cost of acclimation to dietary chemistry in the omnivorous leaf-eared mouse *Phyllotis darwini*. *Journal of Comparative Physiology*, 170(5/6): 411–417.
- Silva J E. 2006. Thermogenic mechanisms and their hormonal regulation. *Physiological Reviews*, 86(2): 435–464.
- Smith J G, Christian K, Green B. 2008. Physiological ecology of the mangrove-dwelling varanid *Varanus indicus*. *Physiological and Biochemical Zoology*, 81(5): 561–569.
- Steinlechner S, Heldmaier G, Becker H. 1983. The seasonal cycle of body weight in the Djungarian hamster: photoperiod control and the influence of starvation and melatonin. *Oecologia*, 60(3): 401–405.
- Tang G B, Cui J G, Wang D H. 2009. Role of hypoleptinemia during cold adaptation in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *American Journal of Physiology*, 297(9): 1293–1301.
- Tung Y C, Piper S J, Yeung D, et al. 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(12): 5940–5947.
- Villarin J J, Schaeffer P J, Markle R A, et al. 2003. Chronic cold



- exposure increases liver oxidative capacity in the marsupial *Monodelphis domestica*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 136(3): 621–630.
- Xiao X Q, Grove K L, Lau S Y, et al. 2005. Deoxyribonucleic acid microarray analysis of gene expression pattern in the arcuate nucleus/ventromedial nucleus of hypothalamus during lactation. *Endocrinology*, 146(2): 4391–4398.
- Xing X, Yang M, Wang D H. 2015. The expression of leptin, hypothalamic neuropeptides and UCP1 before, during and after fattening in the Daurian ground squirrel (*Spermophilus dauricus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 184(1): 105–112.
- Zhang L, Yang F, Huang C M, et al. 2015. The role of photoperiod on the expression of hypothalamic genes regulating appetite in Chevrier's field mouse (*Apodemus chevrieri*). *Animal Biology*, 65(1): 45–56.
- Zhang X Y, Wang D H. 2006. Energy metabolic, thermogenesis and body mass regulation in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*) during cold acclimation and rewarming. *Hormones and Behavior*, 50(1): 61–69.
- Zhang Z Q, Wang D H. 2007. Seasonal changes in thermogenesis and body mass in wild Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 148(2): 346–353.
- Zhao Z J, Cao J, Liu Z C, et al. 2010. Seasonal regulations of resting metabolic rate and thermogenesis in striped hamster (*Cricetulus barabensis*). *Journal of Thermal Biology*, 35(8): 401–405.
- Zhao Z J, Chi Q S, Cao J, et al. 2014. Seasonal changes of body mass and energy budget in Striped hamsters: the role of leptin. *Physiological and Biochemical Zoology*, 87(2): 245–256.
- Zhu W L, Jia T, Lian X, et al. 2008. Evaporative water loss and energy metabolic in two small mammals, voles (*Eothenomys miletus*) and mice (*Apodemus chevrieri*) in Hengduan mountains region. *Journal of Thermal Biology*, 33(6): 324–331.
- Zhu W L, Wang Z K. 2015. Seasonal changes in body mass, serum leptin levels and hypothalamic neuropeptide gene expression in male *Eothenomys olitor*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 184(1): 83–89.
- Zhu W L, Yang S C, Zhang L, et al. 2012. Seasonal variations of body mass, thermogenesis and digestive tract morphology in *Apodemus chevrieri* in Hengduan mountain region. *Animal Biology*, 62(4): 463–478.