

# 锌和降钙素基因相关肽对仔猪摄食的影响及其机制研究

王坤坤 曹崇海 孙建义 刘建新 钱利纯\*

(浙江大学动物科学学院, 动物分子营养学教育部重点实验室, 杭州 310029)

**摘要:** 本试验旨在研究锌和降钙素基因相关肽(CGRP)对仔猪摄食的影响及其机制。试验选用30头9.57 kg左右的“杜×长×大”三元杂交仔猪,随机分为5组(对照I组、试验I组、对照II组、试验II组和试验III组),每组6头猪。5组均饲喂相同的基础饲料,饲养试验期14 d。禁食24 h后,对照I组、试验I组和试验II组分别注射0、2和4 mg/kg BW的锌,注射24 h后屠宰;对照II组和试验III组分别注射0和0.05 mg/kg BW的CGRP,注射2 h后屠宰。结果表明:1)与对照I组相比,试验I组采食量显著提高( $P < 0.05$ ),试验II组采食量却显著降低( $P < 0.05$ );与对照II组相比,试验III组采食量显著下降( $P < 0.05$ )。2)注射锌对仔猪血糖和瘦素水平无显著性影响( $P > 0.05$ ),而使甘油三酯(TG)、胰岛素和胰高血糖素水平显著降低( $P < 0.05$ );注射CGRP显著降低血糖、TG、胰岛素水平( $P < 0.05$ ),显著提高胰高血糖素水平( $P < 0.05$ ),而对瘦素水平无显著性影响( $P > 0.05$ )。3)与对照I组相比,试验I组和试验II组神经肽Y(NPY)mRNA表达量显著提高( $P < 0.05$ ),CGRP mRNA表达量和胆囊收缩素(CCK)mRNA表达量显著降低( $P < 0.05$ );与对照II组相比,试验III组NPY mRNA表达量显著降低( $P < 0.05$ ),CGRP mRNA表达量和CCK mRNA表达量显著提高( $P < 0.05$ )。由此可知,一定剂量的锌可通过调节胰岛素和胰高血糖素分泌,诱导食欲神经肽NPY mRNA表达,抑制饱腹神经肽CGRP和CCK mRNA表达,促进仔猪采食。CGRP可通过促进胰高血糖素分泌,抑制食欲神经肽NPY mRNA表达,诱导饱腹神经肽CGRP和CCK mRNA表达,抑制仔猪采食。

**关键词:** 锌;CGRP;仔猪;采食量

**中图分类号:** S828

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2011)09-1545-08

锌是动物机体必需的微量元素之一,它对维持动物正常的生长发育具有重要的生理功能和营养作用<sup>[1-2]</sup>。动物缺锌表现出来的第一个症状就是厌食和采食量下降,进而导致生长受阻、代谢紊乱、胃肠功能失调、生理机能异常甚至引起疾病<sup>[3-4]</sup>。有研究报道,动物饲喂缺锌饲料第4~5天后表现采食量下降和生长受到抑制<sup>[5]</sup>,高剂量锌可显著提高猪的采食量<sup>[6]</sup>。然而目前有关锌的研究主要集中于饲养水平,有关锌调控仔猪摄食

的分子机制尚不清楚。摄食是一个非常复杂的生理过程,受到中枢和外周系统的综合调控。中枢系统调控主要涉及与摄食相关的神经肽和神经递质,降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)就是其中极其重要的一种神经肽,具有抑制摄食的功能。Sun等<sup>[7]</sup>研究发现缺锌能够上调大鼠CGRP mRNA水平,提示锌和CGRP可能在调控大鼠采食量方面存在某种联系,然而迄今为止还未见有关仔猪这方面的报道。因此,本

收稿日期:2011-04-08

基金项目:国家自然科学基金锌调控仔猪摄食行为的分子机制研究(30771571/C020302)

作者简介:王坤坤(1986—),女,山东滨州人,硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: wk3424@126.com

\* 通讯作者:钱利纯,副研究员,硕士生导师,E-mail: lcqian@zju.edu.cn

试验采用活体注射技术,研究锌和 CGRP 对仔猪采食量、血清生化指标、血浆激素水平以及与摄食相关的神经肽基因表达量的影响,为揭示锌调控仔猪摄食的分子机制奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O (Z0251),纯度 ≥ 99%,购自 Sigma 公司;CGRP(335-41603),购自 Peptide Institute Inc.。

### 1.2 试验设计与饲养管理

选取平均体重 9.57 kg 左右的“杜 × 长 × 大”三元杂交健康断奶仔猪 30 头,随机分为 5 组(各组仔猪体重差异不显著),每组 6 头猪,公母各占 1/2。5 组饲喂相同的基础饲料,饲养试验期为 14 d,饲养试验期间记录仔猪每天的采食量。饲养 14 d 后,自由饮水,并在禁食 24 h 后注射锌和 CGRP。

对照 I 组、试验 I 组和试验 II 组分别耳静脉注射等体积的生理盐水和锌含量为 2、4 mg/kg BW 的硫酸锌溶液<sup>[8-9]</sup>;对照 II 组和试验 III 组分别耳静脉注射等体积的生理盐水和 0.05 mg/kg BW 的 CGRP 溶液<sup>[10]</sup>。记录注射后每组仔猪的采食量。试验期间各组的免疫消毒程序一致,按猪场的常规方法进行。基础饲料参照 NRC(1998)仔猪营养需要配制,基础饲料组成及营养水平见表 1。

### 1.3 样品采集与处理

对照 I 组、试验 I 组和试验 II 组在注射 24 h 后全部屠宰<sup>[8-9]</sup>,对照 II 组和试验 III 组在注射 2 h 后全部屠宰<sup>[10]</sup>,屠宰前 30 min 禁食,自由饮水。

血清样品:用培养皿盛前腔静脉血,静置待析出血清时吸取上层血清,3 000 r/min,4 °C 离心 10 min,上清液分装于 1.5 mL 离心管中,-70 °C 保存,用于生化指标的测定。

血浆样品:用一次性注射器前腔静脉采血 5 mL,立即加入含有 75 μL 10% 乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na<sub>2</sub>)和 100 μL 抑肽酶的抗凝管中,轻轻晃匀,冰上放置 15 min 后吸取上清液,3 000 r/min,4 °C 离心 10 min,上清液分装于 1.5 mL 的离心管中,-70 °C 保存,用于激素水平的测定。

下丘脑样品:打开颅腔,取出下丘脑,立即浸入液氮中冷冻,-70 °C 保存。

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	36.20
膨化玉米 Extruded corn	20.00
豆粕 Soybean meal	6.00
膨化大豆 Extruded soybean	13.80
发酵豆粕 Fermented soybean	2.00
鱼粉 Fish meal	3.00
乳清粉 Whey powder	8.00
大豆浓缩蛋白 Soybean protein concentrate	6.00
预混料 Premix <sup>1)</sup>	5.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>	
消化能 DE/(MJ/kg)	14.24
粗蛋白质 CP	19.50
钙 Ca	0.70
磷 P	0.57
赖氨酸 Lys	1.30
蛋氨酸 Met	0.44
半胱氨酸 Cys	0.73
食盐 NaCl	0.60
锌 Zn/(mg/kg)	108.20

<sup>1)</sup> 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diet: VA 2 200 IU, VD<sub>3</sub> 220 IU, VE 16 IU, VK 0.5 mg, 生物素 biotin 0.05 mg, 胆碱 choline 0.5 mg, 叶酸 folic acid 0.3 mg, 烟酸 nicotinic acid 0.3 mg, 泛酸 pantothenic acid 10 mg, 核黄素 riboflavin 3.5 mg, 硫胺素 thiamine 1 mg, VB<sub>6</sub> 1.5 mg, VB<sub>12</sub> 17.5 μg, Cu 6 mg, I 0.14 mg, Fe 100 mg, Mn 4 mg, Se 0.3 mg。

<sup>2)</sup> 消化能为计算值,其余均为实测值。DE was a calculated value, and others were measured values.

## 1.4 生理生化指标测定

### 1.4.1 血清中生化指标测定

血清中碱性磷酸酶(ALP)、葡萄糖(Glu)和甘油三酯(TG)含量的测定均按照相关试剂盒进行。试剂盒分别购自南京建成生物工程研究所、上海荣盛生物药业有限公司和温州东瓯津玛生物科技有限公司。

### 1.4.2 血浆中激素水平测定

血浆胰岛素(insulin)、胰高血糖素(glucagon)和瘦素(leptin)含量测定均采用放免试剂盒进行,具体操作步骤参照试剂盒说明,试剂盒均购自北京北方生物技术研究所。

## 1.5 实时荧光定量 PCR 法测定 mRNA 表达量

### 1.5.1 引物设计与合成

根据 GenBank 提供的猪  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin)、神经肽 Y (NPY)、CGRP 和胆囊收缩素

(CCK) 的序列, 采用 Primer Premier 5.0 软件设计特异性引物, 引物合成由上海生工生物工程技术有限公司完成。引物序列及参数见表 2。

表 2 基因引物序列、产物大小及登录号

Table 2 Primer sequences, product size and accession number of genes

基因 Genes	引物序列 Primer sequences (5'-3')	产物大小 Product size/bp	登录号 Accession No.
$\beta$ -肌动蛋白 $\beta$ -actin	上游: GGACCTGACCGACTACCTC 下游: GTAGAGGTCTTCCTGATG	334	U07786
神经肽 Y NPY	上游: TGTCCAGACTGACCCTCGC 下游: AACATTTTCCGTGCCTTCT	233	XM_003134856
降钙素基因相关肽 CGRP	上游: CTTTCAGCATCTTGTCCTGTG 下游: TCTGTCTCCTGCTCCTGCTCTT	190	NM_001102473
胆囊收缩素 CCK	上游: GAGGCGGTGCAAAAGGTAGAC 下游: CCAGCCCATGTAGTCCCGGTCA	169	NM_214237

### 1.5.2 总 RNA 的提取及反转录

总 RNA 提取按照试剂盒 (Trizol reagent, Takara) 说明书进行操作。用紫外分光光度计检测总 RNA 质量和浓度, 并用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 的完整性。

总 RNA 反转录按照试剂盒 (Reverse Transcriptase M-MLV, Takara) 说明书进行操作, 获得的 cDNA 立即进行实时荧光定量 PCR 或  $-20^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.5.3 实时荧光定量 PCR 检测

实时荧光定量 PCR 按照试剂盒 (SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup>, Takara) 说明书进行操作, 采用两步法 PCR 扩增程序。

### 1.5.4 相对表达量计算

目的基因相对表达量按以下公式计算:

$$\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{参考基因}};$$

$$-\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{试验组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}};$$

$$\text{目的基因相对表达量} = 2^{-\Delta\Delta Ct}.$$

式中:  $Ct$  为阈值循环。

本试验以  $\beta$ -actin 作为参考基因, 按照以上公式, 分别计算 NPY、CGRP 和 CCK 基因的相对表达量。

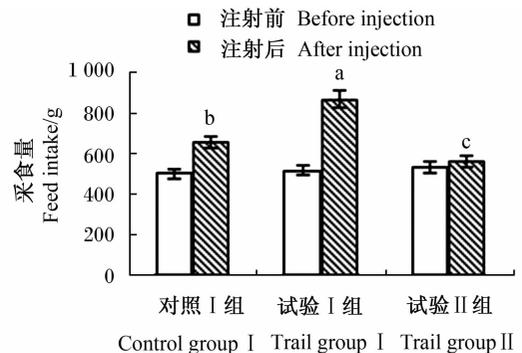
## 1.6 数据处理与分析

对照 I 组、试验 I 组和试验 II 组试验数据采用 SPSS 16.0 软件中的单因素方差分析, 采用 LSD 法进行多重比较; 对照 II 组和试验 III 组试验数据采用 SPSS 16.0 软件中的独立样本  $t$  检验进行统计分析, 两者均以  $P < 0.05$  为差异性显著。

## 2 结果

### 2.1 锌和 CGRP 对仔猪采食量的影响

由图 1 和图 2 可见, 不同水平的锌和 CGRP 处理对仔猪采食量有显著的影响 ( $P < 0.05$ )。对于锌处理, 与对照 I 组相比, 试验 I 组仔猪的采食量显著提高了 36.67% ( $P < 0.05$ ), 试验 II 组仔猪的采食量却显著降低了 26.93% ( $P < 0.05$ ); 试验 I 组和试验 II 组之间差异显著 ( $P < 0.05$ )。对于 CGRP 处理, 与对照 II 组相比, 试验 III 组仔猪采食量显著下降了 22.12% ( $P < 0.05$ )。



柱型图上方标有不同小写字母者表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。图 2 同。

Columns with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as Fig. 2.

图 1 锌注射前后仔猪的采食量

Fig. 1 Feed intake of piglets before and after zinc injection

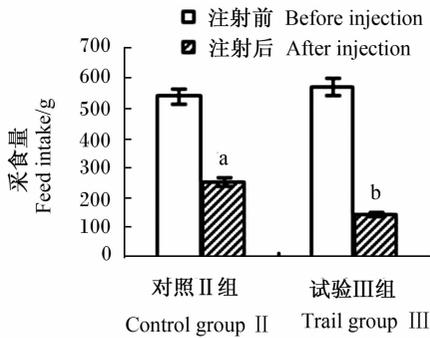


图 2 CGRP 注射前后仔猪的采食量

Fig. 2 Feed intake of piglets before and after CGRP injection

## 2.2 锌和 CGRP 对仔猪血清生化指标的影响

由表 3 可见,对于锌处理,与对照 I 组相比,血清 Glu 含量 3 组之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ),但有降低的趋势;试验 I 组和试验 II 组血清 TG 水

平分别比对照 I 组降低了 9.30% 和 20.93% ( $P < 0.05$ )。对于 CGRP 处理,试验 III 组血清 Glu 水平和 TG 水平分别比对照 II 组降低了 1.65% 和 7.38% ( $P < 0.05$ )。

## 2.3 锌和 CGRP 对仔猪血浆激素水平的影响

由表 4 可见,对于锌处理,试验 II 组血浆胰岛素和胰高血糖素含量分别比对照 I 组降低了 10.06% 和 3.48% ( $P < 0.05$ ),但试验 I 组与对照 I 组和试验 II 组之间均差异不显著 ( $P > 0.05$ );瘦素含量各组之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ),但有降低的趋势。对于 CGRP 处理,试验 III 组胰岛素含量显著低于对照 II 组 ( $P < 0.05$ ),试验 III 组胰高血糖素含量显著高于对照 II 组 ( $P < 0.05$ ),瘦素含量 2 组之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 3 锌和 CGRP 对仔猪血清 Glu 和 TG 水平的影响

Table 3 Effects of zinc and CGRP on serum glucose and triglyceride levels of piglets mmol/L

项目 Items	锌处理 Zinc treatment			CGRP 处理 CGRP treatment	
	对照 I 组 Control group I	试验 I 组 Trial group I	试验 II 组 Trial group II	对照 II 组 Control group II	试验 III 组 Trial group III
葡萄糖 Glu	8.08 ± 0.17	8.01 ± 0.09	7.98 ± 0.22	9.08 ± 0.09 <sup>a</sup>	8.93 ± 0.11 <sup>b</sup>
甘油三酯 TG	0.86 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.78 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.68 ± 0.04 <sup>c</sup>	1.22 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.13 ± 0.03 <sup>b</sup>

相同处理同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下表同。

In the same row, values of the same treatment with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ).

The same as below.

表 4 锌和 CGRP 对仔猪血浆胰岛素、胰高血糖素和瘦素含量的影响

Table 4 Effects of zinc and CGRP on contents of insulin, glucagon and leptin in plasma of piglets

项目 Items	锌处理 Zinc treatment			CGRP 处理 CGRP treatment	
	对照 I 组 Control group I	试验 I 组 Trial group I	试验 II 组 Trial group II	对照 II 组 Control group II	试验 III 组 Trial group III
胰岛素 Insulin/( $\mu$ IU/mL)	5.07 ± 0.34 <sup>a</sup>	4.92 ± 0.25 <sup>ab</sup>	4.56 ± 0.22 <sup>b</sup>	8.04 ± 0.21 <sup>a</sup>	7.55 ± 0.23 <sup>b</sup>
胰高血糖素 Glucagon/(pg/mL)	358.71 ± 6.16 <sup>a</sup>	354.05 ± 6.17 <sup>ab</sup>	346.22 ± 5.66 <sup>b</sup>	345.84 ± 7.95 <sup>b</sup>	362.89 ± 6.28 <sup>a</sup>
瘦素 Leptin/(ng/mL)	1.31 ± 0.11	1.23 ± 0.09	1.22 ± 0.09	1.34 ± 0.07	1.32 ± 0.10

## 2.4 锌和 CGRP 对仔猪下丘脑摄食相关神经肽 mRNA 表达量的影响

由表 5 可见,对于锌处理, NPY mRNA 表达量各组之间差异显著 ( $P < 0.05$ ),试验 I 组和试验 II 组 NPY mRNA 表达量分别是对照 I 组的 1.51 倍

和 2.02 倍 ( $P < 0.05$ );试验 I 组和试验 II 组的 CGRP mRNA 表达量分别是对照 I 组的 0.79 倍和 0.50 倍 ( $P < 0.05$ );CCK mRNA 表达量各组之间差异显著 ( $P < 0.05$ ),试验 I 组和试验 II 组 CCK mRNA 表达量是对照 I 组的 0.47 倍和 0.31 倍

( $P < 0.05$ )。对于 CGRP 处理, 试验 III 组 NPY mRNA、CGRP mRNA 和 CCK mRNA 表达量是对照 II 组的 0.65 倍、3.39 倍和 1.91 倍 ( $P < 0.05$ )。

表 5 锌和 CGRP 对摄食相关神经肽基因 mRNA 的相对表达量的影响

Table 5 Effects of zinc and CGRP on mRNA expression levels of feeding-related neuropeptides genes

项目 Items	锌处理 Zinc treatment			CGRP 处理 CGRP treatment	
	对照 I 组 Control group I	试验 I 组 Trial group I	试验 II 组 Trial group II	对照 II 组 Control group II	试验 III 组 Trial group III
神经肽 Y NPY	1.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	1.51 ± 0.29 <sup>b</sup>	2.02 ± 0.38 <sup>a</sup>	1.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.09 <sup>b</sup>
降钙素基因相关肽 CGRP	1.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.79 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.50 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	3.39 ± 0.26 <sup>a</sup>
胆囊收缩素 CCK	1.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.06 <sup>c</sup>	1.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	1.91 ± 0.31 <sup>a</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 锌和 CGRP 对仔猪采食量的影响

本试验结果表明, 注射 2 mg/kg BW 的锌可显著促进仔猪的采食量, 而注射 4 mg/kg BW 的锌却显著抑制了仔猪的采食量。Hahn 等<sup>[11]</sup>报道在早期断奶仔猪饲料中添加高锌可提高仔猪的随意采食量和平均日增重, 且在血浆锌浓度约为 1.5 mg/L 时能够促进仔猪的随意采食量。畜禽对营养素需求存在最适平台范围, 在此范围之外就引起营养不足或中毒。4 mg/kg BW 的锌注射剂量可能超出了仔猪的生理耐受力, 导致仔猪应激反应, 造成采食量下降。然而, Schell 等<sup>[8]</sup>报道给断奶仔猪注射乙酸锌, 尽管使血清锌水平上升, 但并不能预防仔猪在断奶时采食量等生产性能的下降。Schell 等<sup>[8]</sup>认为注射锌可能对动物采食量无影响或是注射锌的类型、剂量、时间及部位不同可能影响其效应。本试验表明, 注射 CGRP 显著的抑制了仔猪的采食, 使采食量下降, 这与其他的报道一致<sup>[12]</sup>。Dhillon 等<sup>[13]</sup>报道, 下丘脑室旁核注射 CGRP 可抑制大鼠的采食。由此可见, CGRP 可通过中枢系统和外周系统调控动物的摄食行为, 但也有研究表明中枢注射 CGRP 的抑食效果要好于外周注射 CGRP 的抑食效果<sup>[14]</sup>。

#### 3.2 锌和 CGRP 对血清生化指标和血浆激素水平的影响

胰岛素和胰高血糖素是机体维持血糖稳态的一对主要激素, 分别由胰腺  $\beta$  和  $\alpha$  细胞分泌, 前者具有降低血糖的作用, 后者的作用与之相反。这 2 种激素在调节动物采食方面也具有重要的作用。

胰岛素对动物采食具有促进作用, 短期表现为少量胰岛素可以降低血糖浓度, 引起动物饥饿; 长期表现为对脂肪的蓄积, 肥胖者随着体内的瘦素、胰岛素水平的增加, 食欲不降反而上升<sup>[15-16]</sup>。然而, 将胰岛素灌注于狒狒双侧脑室引起剂量依赖的热卡摄入减少和体质量下降, 由此可见, 胰岛素在中枢神经系统中表现为抑制动物的食欲<sup>[17]</sup>。目前, 有关胰岛素对动物采食的影响尚有争议, 需要进一步的研究。胰高血糖素是一种饱腹因子, 参与饱腹感的产生, 是目前公认的终止进食的因子<sup>[18]</sup>。Furuse 等<sup>[19]</sup>报道, 给雏鸡侧脑室注射胰高血糖素能抑制其采食。本试验结果表明, 注射锌对仔猪的血糖水平无显著影响, 这是由于注射锌同时使胰岛素和胰高血糖素的水平降低; 而注射 CGRP 提高了血浆胰高血糖素的水平, 提示 CGRP 可能是通过提高胰高血糖素水平发挥抑食效应。

瘦素具有降低动物食欲、提高能量代谢效率、增加能耗、减少脂储、减轻体重等作用。瘦素与受体结合后作用于下丘脑饱食中枢, 抑制弓状核神经元合成与神经肽的释放, 降低食欲。Luheshi 等<sup>[20]</sup>报道, 无论在大鼠中枢注射还是外周注射瘦素都抑制了大鼠的采食, 且呈现剂量依赖性, 而对瘦素受体缺陷的大鼠采食量无影响。瘦素除了通过下丘脑调控动物采食外, 还能直接作用于脂肪组织而增强脂肪代谢, 消耗脂肪。Wang 等<sup>[21]</sup>报道, 当血浆瘦素浓度在正常生理水平时, 瘦素主要通过下丘脑抑制采食, 对脂肪代谢无直接作用; 但当血浆瘦素浓度超过正常生理水平时, 一方面降低采食量, 一方面通过增强脂肪代谢来消耗体脂。本试验结果表明, 注射锌和 CGRP 使血清 TG 水平

下降,对瘦素水平无影响,但注射锌组瘦素有降低的趋势,这表明瘦素对锌的调控不敏感。在本试验条件下,推测锌和 CGRP 可能不是通过调节瘦素分泌来调控动物采食的。胰岛素在脂肪代谢中也发挥重要作用,是促进 TG 合成的主要激素,本试验中胰岛素水平下降是导致血清 TG 水平下降的原因之一。

### 3.3 锌和 CGRP 对仔猪下丘脑摄食相关神经肽 mRNA 表达量的影响

NPY 具有促进食欲的作用,是目前公认的食欲神经肽<sup>[22]</sup>。本试验结果表明,注射锌上调 NPY mRNA 表达量,而试验 II 组的采食量却下降,推测原因可能是高剂量锌导致 NPY 翻译后的加工修饰受阻,从而降低了 NPY 的生物学活性。Kalra 等<sup>[23]</sup>报道,脑室或 PVN 注入 NPY 可促进摄食、减少能量消耗、减弱交感神经活动和促进脂肪合成。然而 Lee 等<sup>[24]</sup>报道,缺锌使 NPY mRNA 表达量和肽水平均显著增加,但采食量却下降。他们解释为 NPY 水平的上升是对采食量下降的一个补偿机制,缺锌可能导致 NPY 拮抗进而使采食量下降。此外,本试验结果表明注射 CGRP 显著下调 NPY mRNA 表达量,这可能是 CGRP 发挥抑食效应的一个途径。Dhillon 等<sup>[25]</sup>证实,向鼠脑室内注入 CGRP 可抑制 NPY mRNA 表达而导致食欲减退。

CGRP 和 CCK 具有抑制食欲的作用,被称为饱腹神经肽。CGRP 是一类重要的脑肠肽,可通过中枢和外周途径调节摄食,即通过直接调节食欲神经肽如 NPY、黑色素凝集素(MCH)等或间接影响激素如生长激素(GH)、胰岛素等分泌,最终抑制摄食。CCK 是一种多肽类激素,对摄食的调控表现为 2 个方面:在消化道方面,具有刺激胰液分泌和胆囊收缩、延缓胃排空等作用;在中枢及外周神经系统方面,具有抑制摄食、降低体温和对抗吗啡和内啡肽的镇痛效应<sup>[26]</sup>。本试验结果表明,注射锌显著抑制 CGRP 和 CCK 的生物合成。由此可见,锌可在转录水平上调摄食相关神经肽的基因表达从而促进动物的摄食。此外,注射 CGRP 可显著促进 CGRP 和 CCK 的 mRNA 表达量。综上所述,CGRP 可通过抑制食欲神经肽基因表达和促进饱腹神经肽基因表达而对仔猪的采食产生抑制。

## 4 结 论

① 注射 2 mg/kg BW 的锌可显著促进仔猪的采食量,而注射 4 mg/kg BW 的锌却显著抑制了仔猪的采食量;注射 0.05 mg/kg BW 的 CGRP 显著抑制了仔猪的采食量。

② 注射锌显著降低了胰岛素和胰高血糖素的水平,注射 CGRP 显著提高了胰高血糖素水平。锌和 CGRP 通过调节胰岛素和胰高血糖素的分泌调控仔猪的摄食。

③ 适宜剂量的锌可通过诱导食欲神经肽的基因表达和抑制饱腹神经肽的基因表达促进仔猪的采食,而一定剂量的 CGRP 的作用与之相反,即促进饱腹神经肽的基因表达和抑制食欲神经肽的基因表达对仔猪产生抑食效应。

### 参考文献:

- [1] DREOSTI I E. Review: zinc and the gene[J]. Mutation Research, 2001, 475:161-167.
- [2] BRANDĀ-NETO J, STEFAN V, MENDONCA B B, et al. The essential role of zinc in growth[J]. Nutrition Research, 1995, 15(3):335-358.
- [3] SUN J Y, JING M Y, FU L J, et al. Effects of dietary zinc levels on the activities of enzymes, weights of organs and the concentrations of zinc and copper in growing rats[J]. Biological Trace Element Research, 2005, 107(2):153-165.
- [4] RAINS T M, HEDRICK S, RANDALL A C, et al. Food intake patterns are altered during long-term zinc deficiency in rats[J]. Physiology and Behavior, 1998, 65(3):473-478.
- [5] MACDONALD R S. The role of zinc in growth and cell proliferation[J]. The Journal of Nutrition, 2000, 130(5):15005-15085.
- [6] 许梓荣,王敏奇.高剂量锌促进猪生长机理探讨[J].畜牧兽医学报,2001,32(1):11-17.
- [7] SUN J Y, JING M Y, WANG J F, et al. Effect of zinc biochemical parameters and changes in related gene expression assessed by cDNA microarrays in pituitary of growing rats[J]. Nutrition, 2006, 22(2):187-196.
- [8] SCHELL T C, KORNEGAY E T. Effectiveness of zinc acetate injection in alleviating postweaning performance lag in pigs[J]. Journal of Animal Science, 1994, 72:3037-3042.

- [ 9 ] JING M Y, SUN J Y, WANG J F. The effect of peripheral administration of zinc on food intake in rats fed Zn-adequate or Zn-deficient diets [ J ]. *Biological Trace Element Research*, 2008, 124 : 144 – 156.
- [ 10 ] SUN J Y, JING M Y, WANG J F, et al. The approach to the mechanism of calcitonin gene-related peptide-inducing inhibition of food intake [ J ]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2010, 94 ( 5 ) : 552 – 560.
- [ 11 ] HAHN J D, BAKER D H. Growth and plasma zinc responses of young pigs fed pharmacologic level of zinc [ J ]. *Journal of Animal Science*, 1993, 71 : 3020 – 3024.
- [ 12 ] MORLEY J E, FARR S U, FLOOD J F. Peripherally administered calcitonin gene-related peptide decreases food intake in mice [ J ]. *Peptides*, 1996, 17 ( 3 ) : 511 – 516.
- [ 13 ] DHILLO W S, SMALL C J, JETHWA P H, et al. Paraventricular nucleus administration of calcitonin gene-related peptide inhibits food intake and stimulates the hypothalamo-pituitary-adrenal axis [ J ]. *Endocrinology*, 2003, 144 ( 4 ) : 1420 – 1425.
- [ 14 ] KRAHN D D, GOSNELL B A, LEVINE A S. Effect of calcitonin gene-related peptide on food intake [ J ]. *Peptides*, 1984, 5 ( 5 ) : 861 – 864.
- [ 15 ] GEROZISSIS K. Brain insulin and feeding: a bi-directional communication [ J ]. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 490 : 59 – 70.
- [ 16 ] 萧黎, 莫宝庆, 陈新峰. 肥胖儿童食欲与瘦素胰岛素水平的关系 [ J ]. *中国学校卫生*, 2008, 29 ( 12 ) : 1127 – 1129.
- [ 17 ] 高鑫. 胰岛素在中枢神经对控制摄食与体质量平衡的作用 [ J ]. *第二军医大学学报*, 2003, 24 ( 5 ) : 298 – 300.
- [ 18 ] HOLLOWAY S A, STEVENSON J A. Effect of glucagon on food intake and weight gain in the young rat [ J ]. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1964, 42 : 867 – 869.
- [ 19 ] FURUSE M, MATSUMOTO M, OKUMURA J, et al. Intracerebroventricular injection of mammalian and chicken glucagon-like peptide-1 inhibits food intake of the neonatal chick [ J ]. *Brain Research*, 1997, 755 ( 1 ) : 167 – 169.
- [ 20 ] LUHESI G N, GARDNER J D, RUSHFORTH D A, et al. Leptin actions on food intake and body temperature are mediated by IL-1 [ J ]. *Neurobiology*, 1999, 96 : 7047 – 7052.
- [ 21 ] WANG Z W, ZHOU Y T, KAKUMA T, et al. Comparing the hypothalamic and extrahypothalamic actions of endogenous hyperleptinemia [ C ] // *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. Washington D. C. : National Academy of Sciences, 1999, 96 ( 18 ) : 10373 – 10378.
- [ 22 ] HILLEBRAND J J, DE WIED D, ADAN R A. Neuropeptides, food intake and body weight regulation: a hypothalamic focus [ J ]. *Peptides*, 2002, 23 ( 12 ) : 2283 – 2306.
- [ 23 ] KALRA P S, KALRA S P. Use of antisense oligodeoxynucleotides to study the physiological functions of neuropeptide Y [ J ]. *Methods*, 2000, 22 ( 3 ) : 249 – 254.
- [ 24 ] LEE R G, RAINS T M, TOVAR-PALACIO C, et al. Zinc deficiency increases hypothalamic neuropeptide Y and neuropeptide Y mRNA level and does not block neuropeptide Y-induced feeding in rats [ J ]. *The Journal of Nutrition*, 1998, 128 ( 7 ) : 1218 – 1223.
- [ 25 ] DHILLO W S, SMALL C J, JETHWA P H, et al. Paraventricular nucleus administration of calcitonin gene-related peptide inhibits food intake and stimulates the hypothalamo-pituitary-adrenal axis [ J ]. *Endocrinology*, 2003, 144 ( 4 ) : 1420 – 1425.
- [ 26 ] 舒鼎铭, 谭健萍, 曹永长. 缩胆囊素 ( CCK ) 的生物学功能研究进展 [ J ]. *饲料工业*, 2004, 25 ( 11 ) : 12 – 16.

## Zinc and CGRP on Feed Intake of Piglets: Effects and Mechanism

WANG Kunkun CAO Chonghai SUN Jianyi LIU Jianxin QIAN Lichun\*

(Key laboratory for molecular animal nutrition of ministry of education, College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to study the effects of zinc and calcitonin gene-related peptide (CGRP) on feed intake and its regulation mechanism of piglets. Thirty crossed-bred (Duroc × Landrace × Large White) pigs with an average body weight of 9.57 kg were randomly assigned to five groups (control group I, trial group I, trial group II, control group II and trial group III) with 6 piglets per group. Piglets in all the groups were fed with the same basal diet. The feeding trial lasted for 14 days. After 24-hour fasting (free access to water), piglets in control group I, trial group I and trial group II were injected 0, 2 and 4 mg/kg BW zinc, and then slaughtered at 24-hour after injection. Piglets in control group II and trial group III were injected 0 and 0.05 mg/kg BW CGRP, and then slaughtered at 2-hour after injection. The results showed as follows: 1) compared with the control group I, feed intake of trial group I and trial group II were significantly increased ( $P < 0.05$ ) and decreased ( $P < 0.05$ ), respectively. Compared with the control group II, feed intake in trial group III were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). 2) There were no significant differences on serum glucose and leptin levels by injection of zinc ( $P > 0.05$ ), but the triglyceride (TG), insulin and glucagon levels were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Injection of CGRP significantly decreased serum glucose, TG and insulin levels ( $P < 0.05$ ) and increased glucagon levels ( $P < 0.05$ ), but had no effect on leptin levels ( $P > 0.05$ ). 3) Compared with the control group I, the expression levels of NPY mRNA in trial group I and trial group II were significantly increased ( $P < 0.05$ ), but the CGRP and CCK mRNA expression levels were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group II, the CGRP and CCK mRNA expression level were significantly increased ( $P < 0.05$ ), while NPY mRNA expression levels was decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in trial group III. These results indicate that zinc can stimulate intake of piglets through inducing NPY mRNA expression and inhibiting CGRP and CCK mRNA expression. However, CGRP can compromise feed intake of piglets by inhibiting NPY mRNA expression and inducing CGRP as well as CCK mRNA expression. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(9):1545-1552]

**Key words:** zinc; CGRP; piglets; feed intake