

小于胎龄儿大鼠 ghrelin 水平变化及其与 GH/IGF-1 生长轴的关系

沈振宇, 杜敏联*, 黄越芳, 苏 喆, 邓红株
(中山大学附属第一医院儿科, 广东 广州 510080)

摘 要:【目的】探讨 ghrelin 在小于胎龄儿发生矮身材中的作用。【方法】采用母鼠妊娠期饥饿法, 建立 SGA 动物模型。根据新生鼠及其生后第 4 周时体质量和/或身长分为有生长追赶 SGA 组、无生长追赶 SGA 组和正常对照组即适于胎龄儿 (AGA) 鼠组; 幼鼠每周测量体质量和鼻肛长。4 周龄时测定 24 h 尿 GH 排泄率。分别于 4 周、8 周和 12 周测定血清 ghrelin、IGF-1、IGFBP3 浓度。【结果】正常 SD 雄性大鼠在生后 4 周和 12 周的血 ghrelin 水平分别为 (1.6 ± 0.3) ng/mL 和 (1.8 ± 0.5) ng/mL, 无统计学意义 ($P > 0.05$)。4 周龄雄性 SGA 鼠血 ghrelin 水平显著高于正常大鼠, 但 24 h 尿 GH 排泄量无相应升高, 且两者间无相关性; 但 ghrelin 水平与血 IGF-1、血 IGFBP3 水平呈有意义的负相关, 分别 $r = -0.333, P = 0.031; r = -0.338, P = 0.028$ 。12 周龄有生长追赶组 SGA 大鼠的血 ghrelin 水平 (1.4 ± 0.5) ng/mL 与对照组比较明显下降 ($P < 0.05$), SGA 组血 IGF-1 和 IGFBP3 水平显著降低, 且无生长追赶组更低 ($P < 0.05$)。24 h 尿 GH 排泄量各组间未见差异 ($P > 0.05$)。【结论】SGA 大鼠可能存在 ghrelin 抵抗并与 GH 抵抗汇同加重了对 SGA 生长的损害。

关键词: ghrelin; 小于胎龄儿; 生长追赶; 胰岛素样生长因子-1

中图分类号: R692.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-3554(2009)06-0706-05

Ghrelin Level Variation and Its Relation with GH/IGF-1 Growth Axis in Small for Gestational Age Rats

SHEN Zhen-yu, DU Min-lian*, HUANG Yue-fang, SU Zhe, DENG Hong-zhu
(Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To observe the ghrelin level variation and its relation with GH/IGF-1 growth axis in small for gestational age (SGA) rats and to explore the role of ghrelin as a medium and regulation of metabolism and growth in SGA rats. 【Methods】Establishment of the SGA animal model made by starvation method in pregnant rat. Experiment Grouping: ① Group C: Normal matched control; ② Group S1: SGA group with growth catch-up; ③ Group S2: group without growth catch-up. The body weight and nose anuses length were measured weekly. 48-hour urines were collected for detecting the excretory rate of GH when the young rat were 4 weeks old. The serum of group C was sampled on the 4th, 8th, and 12th week respectively while the serum of group S1 and S2 were collected on the 4th and 12th week, and then the concentration of ghrelin, insulin, IGF-1, and IGFBP3 were evaluated. 【Results】The ghrelin level remains invariant in normal SD male rats of different stages after birth 4 weeks (1.6 ± 0.3) ng/mL, 12 weeks (1.8 ± 0.5) ng/mL ($P > 0.05$). As compared with control group, serum IGF-1 and IGFBP3 level declined remarkably in SGA group ($P < 0.05$). The variation were not detected as to the GH secretion in 24 hours ($P > 0.05$). The serum ghrelin level in SGA group of 4 week is remarkably higher than normal rats, but the urinal GH secretion in 24 hours did not manifest an increase. Moreover, there was no relevance. The ghrelin level was adversely related with serum IGF-1, IGFBP3 level, denoting the ghrelin resistance of different degree. The serum ghrelin level in SGA rats was remarkably higher than that in normal rats while there was no notable difference between growth catch-up group and group without catch-up at age 4 weeks. As compared with the control group (1.8 ± 0.5) ng/mL, the serum ghrelin level (1.4 ± 0.5) ng/mL decreased dramatically in SGA rats with

收稿日期: 2009-02-23

基金项目: 广东省科技计划项目(2007B031510005)

作者简介: 沈振宇, 博士, 讲师, E-mail: ahshen@163.com; * 通信作者: 杜敏联, 教授, 博士生导师, E-mail: zsyyszzx@sysu.edu.cn

growth catch-up at 12 weeks ($P < 0.05$). 【Conclusions】 Obstruction in the transmission of GH secretion signal activated by ghrelin maybe occur in SGA rat, and when coincided with GH resistance, the SGA growth is impaired.

Key words: ghrelin; small for gestational age; growth catch-up; IGF-1

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2009, 30(6): 706-710]

小于胎龄儿(small for gestational age, SGA)易致成年矮身材,而 SGA 儿童期生长的影响因素是目前国内外研究热点之一^[1-2]。SGA 儿童期的生长调控模式已由胎儿期和生后早期的婴儿型生长模式(营养物质—胰岛素—IGF-1)转变为儿童型生长模式(ghrelin/GHRH/SS—GH—IGF-1)。既往研究发现,SGA 无生长追赶者(约占 SGA 的 10%~20%)促生长轴存在生长激素抵抗和 IGF-1 抵抗,这是导致 SGA 持续矮小的主要病理机制,尤其是前者。较大剂量的生长激素治疗可以弥补生长激素抵抗所造成的促生长信号下传的受损,从而改善 SGA 的远期身高。Ghrelin 是由日本的 Kojima^[3]于 1999 年报道发现的一种多肽,它分泌于胃,却能作用于中枢的生长激素促分泌素受体促使生长激素(growth hormone, GH)释放。它具有既能促进生长激素释放、又促进食欲、调节能量代谢的功能。Ghrelin 是近年来在内分泌代谢、胃肠疾病领域的一个研究热点。Ghrelin 作为调控生长激素分泌的主要激素之一,在 SGA 生长激素抵抗和无抵抗者中有何变化尚不得而知。本研究通过比较正常组、生长追赶良好的 SGA 组、无生长追赶的 SGA 组大鼠的 ghrelin 水平的变化,及与促生长轴各因素的相关关系,试图阐明 ghrelin 在 SGA 生长过程中的作用和意义以及其变化对机体的影响,为寻找可能的代替治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验动物:正常清洁级 Sprague-Dawley 大鼠(由中山大学北校区实验动物中心提供)。饲料是由广东省实验动物场统一提供的全价颗粒饲料,饮水为高压消毒自来水。动物实验中心饲养条件:标准温度:(20 ± 3)℃,湿度 50%~70%,每日昼夜周期各 12 h。

1.2 主要试剂

GH 浓度放免试剂盒:北京科美东雅生物技术有限公司提供。放射免疫法,灵敏度 2 μ IU,批间

差异 < 9.5%,批内差异 < 6.5%。胰岛素(insulin, Ins)浓度放免试剂盒:北京科美东雅生物技术有限公司提供。放射免疫法,灵敏度 1.5 μ IU/mL,批间差异 < 10%,批内差异 < 8.1%。血糖浓度测定试剂盒:河北保定长城临床试剂有限公司提供。过氧化物酶法,批间差异 < 3%,批内差异 < 2%。大鼠血浆 IGF-1 ELISA 试剂盒:美国 DSL 公司提供。酶联免疫法,灵敏度 30 ng/mL,批间差异 < 9.5%,批内差异 < 7.4%。大鼠 ghrelin ELISA 试剂盒:美国 usbio 公司提供。酶联免疫法,灵敏度 0.1 ng/mL,批间差异 < 14%,批内差异 < 5%。

1.3 主要仪器设备

SN-695B 型智能放免 γ 测量仪(上海原子核研究所日环仪器一厂)。ELX800 型酶标仪(美国 Bio-tech instruments, inc.)。VIS-723 型分光光度计(上海第三分析仪器厂)。-70℃低温冰箱(日本 SANYO),Sigma 3V-30 台式高速低温离心机, DHW-600 型电热恒温水箱(余姚长江温度仪表厂)。

1.4 实验方法

1.4.1 动物模型的建立 采用母鼠妊娠期饥饿法建立 SGA 动物模型^[4]。选取体质量 200~250 g 母鼠 20 只及体质量 200~250 g 公鼠 6 只,合笼过夜待其自然交配,每日上午对母鼠阴道涂片显微镜下寻找是否存在精子。以阴道涂片找到精子为受孕第 1 天,正常对照组母鼠自由饮水及自由进食,平均每日进食常规饲料 22 g。实验组母鼠怀孕期间(约 21 d)自由饮水,限制进食为每天(9.0 ± 0.5)g 饲料。自然分娩,分娩后母鼠恢复自由进食,幼鼠母乳喂养,满 3 周龄断乳,断乳后幼鼠予常规饲料自由进食。怀孕母鼠正常喂养,自然分娩之雄性鼠仔为正常对照组(C 组)即适于胎龄儿(appropriate for gestational age, AGA)鼠组。实验组新生鼠出生体质量和/或身长在正常对照组新生鼠的-2SD 以下者为 SGA 模型幼鼠。实验组幼鼠之雄性者在生后第 4 周时(相当于人类儿童期至青春期前)身长和/或体质量位于正常对照组-2SD 以上者(>-2SD)为生长追赶组(S1 组),位于-2SD

以下($\leq -2SD$)者为无生长追赶组(S2组)。各组幼鼠3周后均雌雄分笼。雌鼠在3周断乳、分笼后弃去。用5%苦味酸定点涂毛法标记各雄鼠。

1.4.2 实验动物分组 共分3组:①C组:正常对照组;②S1组:生长追赶SGA组;③S2组:无生长追赶SGA组。

1.4.3 标本获取 幼鼠每周测量体质量(精确至0.1 g)、鼻肛长(精确至1 mm)。4周龄时置于代谢笼内留取48 h尿,完整收集尿样,低温离心去除杂质,分离上清液后低温冻存,备测尿GH浓度。

24 h尿GH排泄率:测定48 h尿GH排泄总量(尿量 $\times$ GH浓度),

24 h尿GH排泄率 = 48 h GH排泄量(μg)/[体质量(g) $\times$ 2],即 $\mu\text{g/g}$ 。

C组大鼠分别于满4、8、12周时分别取14、10、10只雄性大鼠取血。S1和S2组大鼠于满4、12周时分别各取14、10只雄性大鼠取血。取血日各实验鼠禁食8~10 h,不禁水。取血前称质量、腹腔内注射100 g/L水合氯醛0.3 mL/100 g麻醉。采血:摘眼球法取血样后立即低温离心,分离血浆,测定葡萄糖浓度,余血样低温冻存,备测ghrelin、胰岛素、IGF-1、IGFBP3浓度。

1.5 统计学分析

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素分析(one-way ANOVA)方差分析,多组数据间的两两比较用最小显著法(LSD法)。相关分析用Pearson法。均以 $P < 0.05$ 为显著性界限。

2 结果

2.1 孕鼠饥饿法能较理想获得SGA幼鼠

统计一个季度的实验,出生时正常对照新生鼠共27只,其中雄鼠16只,出生体质量(6.31 ± 0.55) g。孕鼠饥饿法所获得的幼鼠共126只,符合标准的SGA新生鼠共98只(占77.7%),追踪至4周龄时,正常对照新生雄鼠有1只于实验过程中死亡而退出实验,存活15只(存活率为93.8%),SGA幼鼠有9只于实验过程中死亡而退出实验,存活89只(存活率为90.8%)。其中雄性41只(占44.9%),其中:有生长追赶14只(占34.1%);无生长追赶27只(占65.9%)。结果说明母鼠孕期饥饿法是成功建立SGA幼鼠模型的较理想方法。

2.2 各组大鼠体格比较

出生时,C组体质量为(6.31 ± 0.55)g($n = 16$),SGA组体质量为(4.31 ± 0.50)g($n = 32$),两组比较有显著性差异($t = 2.04, P < 0.01$)。出生时,C组鼻肛长为(5.01 ± 0.21)cm($n = 16$),SGA组为(4.39 ± 0.25)cm($n = 32$),两组比较差异有统计学意义($t = 2.04, P < 0.01$)。

SGA幼鼠体格生长:4周龄时,S1组体质量、身长分别追赶至C组的 $-1.6SD$ 及 $-0.8SD$ 水平。S2组体质量、身长则分别为C组的 $-2.7SD$ 及 $-2.1SD$ 水平,均明显低于C组。8周龄时,S1、S2身长仍明显低于C组,S2组体质量也明显低于C组,但S1组体质量与C组无差别。12周龄时,S2组体质量、身长仍明显低于C组,呈现为持续小个体;S1组体质量、身长与C组无差别,但身长有较低的趋势(在C组的 $-0.8SD$ 水平,表1,2)。

2.3 各组不同周龄ghrelin值

正常SD雄性大鼠在生后不同时期血ghrelin

表1 各组体质量比较

Table 1 Weight of rats in the three groups

($\bar{x} \pm s, \text{g}$)			
Group	4 week	8 week	12 week
C	$69 \pm 6(n = 15)$	$199 \pm 20(n = 13)$	$297 \pm 32(n = 10)$
S1	$59 \pm 5(n = 14)^{1)}$	$196 \pm 20(n = 10)^{1)}$	$303 \pm 29(n = 10)^{1)}$
S2	$53 \pm 4(n = 14)^{1)}$	$163 \pm 18(n = 10)^{1)}$	$258 \pm 31(n = 10)^{1)}$
F	34.649	11.652	6.185
P	0.000	0.000	0.006

1) Compared with group C, $P < 0.05$; group C: group of control, group S1: group of SGA with catch-up growth, group S2: group of SGA without catch-up growth control.

表2 各组鼻肛长比较

Table 2 Height of rats in the three groups

($\bar{x} \pm s, \text{cm}$)			
Group	4 week	8 week	12 week
C	13.3 ± 1.0	21.0 ± 1.9	23.1 ± 2.4
S1	$12.5 \pm 0.8^{1)}$	$18.4 \pm 1.5^{1)}$	$21.2 \pm 2.0^{1)}$
S2	$11.1 \pm 0.7^{1)}$	$16.6 \pm 0.7^{1)}$	$18.1 \pm 1.7^{1)}$
F	22.748	24.580	13.790
P	0.000	0.000	0.000

1) Compared with group C, $P < 0.05$; group C: group of control, group S1: group of SGA with catch-up growth, group S2: group of SGA without catch-up growth control.

值:4周(儿童期)为 (1.6 ± 0.3) ng/mL、8周(青壮年期)为 (1.7 ± 0.5) ng/mL、12周(成年期)为 (1.8 ± 0.5) ng/mL,其 ghrelin 水平并无显著性差异($F = 2.334, P > 0.05$)。在4周龄时,SGA大鼠血 ghrelin 水平显著高于正常大鼠,而生长追赶组和不追赶组之间未见显著性差异。在12周龄,生长追赶组的SGA大鼠的血 ghrelin 明显下降,S2组也可见下降,但未见显著性差异。两组SGA大鼠12周龄血 ghrelin 水平比各自同组4周龄时明显下降(表3)。

表3 各组大鼠不同周龄时 ghrelin 值

Table 3 Surem ghrelin level of rats in the three groups

($\bar{x} \pm s$, ng/mL)		
Group	4 week ($n = 14$)	12 week ($n = 10$)
C	1.6 ± 0.3	1.8 ± 0.5
S1	$1.8 \pm 0.3^{1)}$	$1.4 \pm 0.5^{1)3)}$
S2	$2.0 \pm 0.3^{2)}$	$1.4 \pm 0.7^{3)}$
<i>F</i>	6.403	2.482
<i>P</i>	0.004	0.099

1) Compared with group C, $P < 0.05$; 2) Compared with group C, $P < 0.01$; 3) Compared with the same group at 4 weeks, $P < 0.05$. group C: group of control, group S1: group of SGA with catch-up growth, group S2: group of SGA without catch-up growth control.

2.4 四周龄雄鼠各指标比较

结果显示:①SGA组 IGF-1 值降低,且无生长追赶组降低的幅度大,且均有显著性意义;②血 IGFBP3 的变化与 IGF-1 同步、相似;③24

表4 四周龄雄鼠各指标比较

Table 4 Surem ghrelin, IGF-1, IGFBP3, and urine GH level of rats of 4 weeks in three groups

($\bar{x} \pm s$, $n = 14$ in every group)				
Group	Ghrelin (ng/mL)	GH (μ g/g)	IGF-1 (ng/mL)	IGFBP3 (ng/mL)
C	1.59 ± 0.33	0.89 ± 0.26	385 ± 61	193 ± 66
S1	$1.85 \pm 0.32^{1)}$	1.02 ± 0.31	$296 \pm 55^{2)3)}$	$125 \pm 45^{2)}$
S2	$1.99 \pm 0.27^{2)}$	0.99 ± 0.32	$242 \pm 63^{2)}$	$88 \pm 31^{2)}$
<i>F</i>	6.403	0.725	20.205	16.262
<i>P</i>	0.004	0.491	0.000	0.000

1) Compared with group C, $P < 0.05$; 2) Compared with group C, $P < 0.01$; 3) Compared with group S2, $P < 0.05$

group C: group of control, group S1: group of SGA with catch-up growth, group S2: group of SGA without catch-up growth control. GH: growth hormone, IGF-1: insulin-like growth factor-1, IGFBP3: insulin-like growth factor binding protein-3

小时尿 GH 排泄量各组未见差异。在相近的 GH 水平下,SGA 组的 IGF-1 下降,且无生长追赶组降低更甚,提示 SGA 在 GH—IGF-1 的过程中存在 GH 抵抗,从而使 GH 的促生长信号强度衰减(表4)。

2.5 四周龄雄鼠各指标相关分析

4周龄雄性鼠血 ghrelin 水平与血 IGF-1 水平($r = -0.333$, $P = 0.031$)、血 IGFBP3 水平($r = -0.338$, $P = 0.028$)呈有意义的负相关,与24 h 尿 GH 排泄量未呈现有意义的相关($r = -0.107$, $P = 0.500$),提示存在不同程度的 ghrelin 抵抗。

3 讨论

3.1 SGA 鼠有 GH 抵抗

本研究对 ghrelin—GH—IGF-1/IGFBP3 促生长轴各因素在正常大鼠及 SGA 大鼠(包括生长追赶组和无生长追赶组)中的变化及相关性分析显示:两组SGA大鼠的血 ghrelin 水平均比正常组升高,血 IGF-1、IGFBP3 水平显著低于比正常组,而两组SGA鼠的24 h 尿 GH 排泄率却与正常组无显著差异,提示 SGA 鼠有 GH 抵抗。而有生长追赶者(S1组) IGF-1 和 IGFBP3 虽比正常组低但仍明显高于无生长追赶者(S2组),可提示无追赶的 GH 抵抗程度高于有追赶组,使最终表现为体格发育上两者的显著差异。

3.2 正常 SD 雄性大鼠血 ghrelin 水平不随年龄而改变

Ghrelin 作为一个多功能的脑肠肽,它在不同器官、生后不同年龄段呈现不同的作用面^[5-8]。在儿童期,ghrelin 与 GH-IGF-1 一样有对代谢和生长的双重调控作用,而在成年期,由于体格生长已经结束,两者均仅呈现以能量调控为主及影响心、胃肠、胰腺等内脏器官的功能。关于 ghrelin 与年龄的关系,各家报道不一。Haqq 等^[9]报道血 ghrelin 水平与年龄有关或呈负相关,而 Liu 等^[10]则报道当考虑到各种因素(BMI、胰岛素敏感性、HDL、性别、体脂含量和分布等)并行多元回归分析时,ghrelin 与年龄并无相关性,但受 IGF-1 影响。本实验结果显示:对于正常 SD 雄性大鼠来讲,生后不同周龄(青春前期,青春期以及成年期)者的血 ghrelin 水平有升高趋势但并无显著差别,提示年龄并非是影响 ghrelin 的独立因素。

3.3 Ghrelin 高分泌可能是 ghrelin 抵抗的表现

本研究结果示 SGA 的 ghrelin 高于正常对照组,但尿 GH 无相应升高。可以从两方面来推测可能的机理。首先,似所有激素抵抗一样,表现为相应激素水平升高以及其受体激活转录的靶产物低下或不相应升高。因此,高 ghrelin 可视为是 ghrelin 抵抗的表现。SGA 儿有为应对营养低下而发生的涉及代谢调控的宫内激素重整而导致生后的多内分泌激素抵抗,产生抵抗的激素均涉及代谢调控,包括研究较多的 GH 抵抗(也包括 IGF-1 抵抗)、胰岛素抵抗、瘦素抵抗等,ghrelin 作为也是代谢调控激素的角色,它完全也有可能发生不同程度的“ghrelin 抵抗”,使其促 GH 分泌的功能未能得到充分体现。ghrelin 的抵抗可能发生在 ghrelin 受体——GHS-R1a,或者发生在其结合受体后的信号传导通路上,具体环节有待进一步证实和探讨。同时,本研究结果中 S2 组的血 ghrelin 水平虽然与 S1 组无显著性差异,但 S2 组高于 S1 组,而两组的 GH 水平基本相当,有可能反映 ghrelin 的抵抗 S2 组甚于 S1 组,最终体现为体格生长追赶 S2 组差于 S1 组。

其次,虽然 ghrelin 经由不同于传统的 GHRH/SS—GH 途径起到促 GH 分泌的作用,但研究发现完整的 GHRH/SS-GH 轴的存在对其作用可能是必需的。其间,下丘脑弓状核的 NPY 细胞参与了该过程。而且,机体内调节 GH 分泌的三种激素间亦互相作用、互相制约,持续高 ghrelin 水平在抑制 GHRH 的作用的同时可能也使 SS mRNA 表达增加、活性增强;而 GHRH 上调 ghrelin 水平,SS 下调 ghrelin 水平,从而达到调节网络的平衡^[10]。在 SGA 个体中,其下丘脑的 SS mRNA 表达显著升高,这一方面可能与 SGA 的高 ghrelin 水平有关,另一方面也可能反馈抑制了 ghrelin 的促 GH 分泌作用,表现为在 SGA 者 NPY mRNA 表达的低下,使 ghrelin 信号在往下游传递的过程中效应减弱,因而无法抵消 SS 对 GH 释放的抑制作用,最终使 SGA 个体中 GH 水平并无显著升高。上述两个推

测的证实,尚有赖于作相应研究探讨证实。

参考文献:

- [1] Albertsson-Wikland K, Wennergren G, Wennergren M, et al. Longitudinal follow-up of growth in children born small for gestational age [J]. *Acta Paediatr*, 1993, 82(5): 438-443.
- [2] 杨速飞,杨慧明,吴康敏,等. 小于胎龄儿幼儿期的体格生长 [J]. *现代预防医学*, 2005, 32(6): 600-603.
- [3] Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach [J]. *Nature*, 1999, 402(6762): 656-660.
- [4] 丘小汕,黄婷婷,沈振宇,等. 早期不同饮食营养干预对宫内生长迟缓幼鼠生长追赶的影响 [J]. *中华儿科杂志*, 2004, 42(10): 782-786.
- [5] Schaller G, Schmidt A, Pleiner J, et al. Plasma ghrelin concentrations are not regulated by glucose or insulin: a double-blind, placebo-controlled crossover clamp study [J]. *Diabetes*, 2003, 52(1): 16-20.
- [6] Sun Y, Ahmed S, Smith RG. Deletion of ghrelin impairs neither growth nor appetite [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(22): 7973-7981.
- [7] Darendeliler F, Bas F, Bundak R, et al. Elevated ghrelin levels in preterm born children during prepubertal ages and relationship with catch-up growth [J]. *Eur J Endocrinol*, 2008, 159(5): 555-560.
- [8] Kitamura S, Yokota I, Hosoda H, et al. Ghrelin concentration in cord and neonatal blood: relation to fetal growth and energy balance [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(11): 5473-5477.
- [9] Haqq AM, Farooqi IS, O'Rahilly S, et al. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(1): 174-178.
- [10] Liu YL, Yakar S, Otero-Corchon V, et al. Ghrelin gene expression is age-dependent and influenced by gender and the level of circulating IGF-I [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2002, 189(1-2): 97-103.

(编辑 张恩健)