

DOI:CNKI:61-1390/S. 20120223. 1721. 010

网络出版时间:2012-02-23 17:21

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120223.1721.010.html>

中华蟾蜍蝌蚪变态过程中甲状腺的组织学变化

刘 静¹, 柴丽红², 吴民耀¹, 王宏元¹

(1 陕西师范大学 生命科学学院, 陕西 西安 710062; 2 长安大学 环境科学与工程学院, 陕西 西安 710064)

[摘 要] **【目的】**研究中华蟾蜍(*Bufo gargarizans*)蝌蚪在不同发育阶段甲状腺的组织学变化。**【方法】**以处于变态高峰前后 5 期(28, 33, 38, 42, 46 期)的中华蟾蜍蝌蚪为试验材料, 用 Motic BA300 光学显微镜对各个发育时期蝌蚪的甲状腺进行组织学观察, 测定蝌蚪的全长、体质量和肝质量等形态指标, 并分析这些形态指标与甲状腺直径、滤泡平均直径及最大直径的线性相关性。**【结果】**在 28 期时, 中华蟾蜍蝌蚪甲状腺出现但无分泌甲状腺激素的功能; 33 期时, 甲状腺具备了分泌甲状腺激素的能力; 此后甲状腺进一步发育, 在蝌蚪前肢展开期甲状腺活性达到最强; 至尾完全吸收期, 甲状腺机能减弱。蝌蚪全长、体质量及肝质量与甲状腺直径及滤泡直径呈正线性相关。**【结论】**具有分泌机能的甲状腺出现的发育时期, 与两栖动物变态类型相关; 分泌高峰期出现的发育时期与幼体持续时间密切相关。中华蟾蜍蝌蚪的全长可以直观地反映其甲状腺的机能活性。

[关键词] 中华蟾蜍; 蝌蚪; 甲状腺

[中图分类号] Q954.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2012)03-0007-06

Changes of thyroid gland histological structures during the metamorphosis of *Bufo gargarizans* tadpole

LIU Jing¹, CHAI Li-hong², WU Min-yao¹, WANG Hong-yuan¹

(1 College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China;

2 Environmental Science and Engineering College, Chang'an University, Xi'an, Shaanxi 710064, China)

Abstract: **【Objective】** The research was to study the changes of thyroid gland histological structures in tadpole of *Bufo gargarizans* during development. **【Method】** Tadpoles were taken from every five stages before and after metamorphosis(stage 28, stage 33, stage 38, stage 42 and stage 46), and histological structures of thyroid glands in tadpoles were observed by Motic BA300 microscope. In addition, total length, body weight and liver weight of the tadpoles were measured. Then, the relationship was analyzed between total length, body weight, liver weight and thyroid gland, follicle diameter and follicle number. **【Result】** The thyroid gland was first present at the stage 28, but it lacked function. Thyroid gland possessed the ability of secreting hormone at the stage 33. The activity of thyroid gland reached peak when forelimbs unfolded. The activity of thyroid gland declined, when the tail began to dissolve. There was a linear correlation between total length, body weight, liver weight and thyroid gland diameter and follicle diameter. **【Conclusion】** The developmental stage in which the thyroid gland begins to secrete thyroid hormone is related with the amphibian metamorphic types; and the larval period is related to the developmental stage, at which the thyroid gland reaches peak. Changes of body length in *B. gargarizans* tadpole may reflect the activity of the thyroid gland directly.

* [收稿日期] 2011-09-13

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项(GK261001)

[作者简介] 刘 静(1986—), 女, 河北秦皇岛人, 在读硕士, 主要从事发育生物学研究。E-mail: anjingtiger@126.com

[通信作者] 王宏元(1974—), 男, 陕西西安人, 讲师, 博士, 主要从事发育生物学研究。E-mail: hongyuanwang@snnu.edu.cn

Key words: *Bufo gargarizans*; tadpole; thyroid gland

两栖动物幼体蝌蚪的变态过程是由甲状腺激素控制的。蝌蚪在变态过程中经历了组织和器官的重构,其中包括神经系统的重塑、四肢的生长和尾部的退化^[1-2]。研究表明,不同发育阶段蝌蚪体内的甲状腺激素水平差异较大,如在变态高峰期,甲状腺激素水平达到顶峰,而到了变态后期,甲状腺激素水平又会逐渐下降^[3-5]。同时,甲状腺激素在不同的靶组织和器官中具有不同的作用。尾部肌肉组织在甲状腺激素的作用下逐渐退化并消失,从而使蝌蚪在变态高峰期的体长缩短;甲状腺激素作用于蝌蚪骨骼,可以引起骨骼的重构^[6],从而使蝌蚪的体质量发生改变,以适应之后的陆生生活;作为甲状腺激素的靶器官,在蝌蚪发育阶段的后期,肝脏中的白蛋白合成上调^[7],从而使肝胰组织细胞密度增大^[8],以满足陆地生存过程中代谢终产物 NH_3 到尿素的转变。

两栖类动物变态被认为是研究发育过程中甲状腺激素作用的理想模型^[9]。蝌蚪从受精卵到后肢出现为变态初期,从后肢出现到前肢展开为变态前期,从前肢展开到尾完全吸收为变态高峰期。研究表明,在变态初期,蝌蚪甲状腺不分泌甲状腺激素;进入变态前期后,甲状腺开始分泌甲状腺激素;到变态高峰期,甲状腺激素水平迅速升高并达到顶峰^[10-11]。目前,关于两栖类动物各发育时期甲状腺组织结构的报道仅见于直接发育类型的金线雨蛙(*Eleutherodactylus coqui*)^[12],对变态类两栖动物则未见报道。由于直接发育两栖类动物没有水生的幼体期,在胚胎中即形成成体特征,不经历变态,因此直接发育类型的蝌蚪不宜作为研究甲状腺激素在发育过程中作用的模型。因而本文采用组织学方法,对变态前期和变态高峰期的中华蟾蜍(*Bufo gargarizans*)蝌蚪的甲状腺进行观察,依据甲状腺的组织学变化来评估蝌蚪的发育及变态过程,并测定了蝌蚪外形发育的形态指标(如全长、体质量、肝质量等),分析形态指标与甲状腺相关指标的线性关系,旨在揭示蝌蚪不同发育阶段甲状腺的组织学变化及其与蝌蚪外形的内在联系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

中华蟾蜍蝌蚪于 2010-03 采自位于秦岭北坡的西安市长安区大峪水库附近。依据 Gosner^[13]的分期标准对蝌蚪进行分期,并选取处于变态高峰的前

后 5 期(分别为 28,33,38,42,46 期)的中华蟾蜍蝌蚪作为试验材料。各期中华蟾蜍蝌蚪的典型形态特征判定如下:28 期的蝌蚪后肢芽肉眼可见,33 期的蝌蚪后肢呈匙状,38 期的蝌蚪后肢五趾分开,42 期的蝌蚪前肢展开,46 期蝌蚪尾部完全吸收退化。

1.2 研究方法

1.2.1 形态指标的测定 随机选取健康的中华蟾蜍蝌蚪,每期 10 只,采用电子游标卡尺(桂林广陆电子数显游标卡尺,测量范围 150 mm,精确度 0.01 mm)测定全长;用 Sartorius BS124S 型电子天平(精确度 0.000 1 g)测定体质量;在 Zeiss Discovery V12 型体视显微镜下剥离出蝌蚪的肝脏,电子天平测定肝质量。

1.2.2 甲状腺的组织学观察 选取 38 期健康蝌蚪,用质量分数为 4%的多聚甲醛固定,在体视显微镜下剥离并观察甲状腺,用 Canon EOS-50D 型相机采集图像。

随机选取健康的蝌蚪,每期 5 只,用质量分数为 4%的多聚甲醛固定,梯度乙醇脱水后,整体包埋于石蜡中。常规石蜡切片,沿体轴方向背腹连续纵切,切片厚度为 8 μm ,HE 染色,中性树胶封片后,用 Motic BA300 光学显微镜观察,用 Nikon ECLIPSE 80i 显微成像系统采集图像;并用显微镜的目镜测微尺测量每只蝌蚪 2 个甲状腺的直径和滤泡直径,记录滤泡的数量。

1.3 数据处理与分析

运用单因素方差方法,分析中华蟾蜍蝌蚪不同变态发育时期的全长、体质量及肝质量数据;采用 Pearson 相关系数方法,分析全长、体质量和肝质量与甲状腺直径、滤泡平均直径及最大直径的线性相关性。所有的试验数据分析均用 SPSS16.0 完成。

2 结果与分析

2.1 中华蟾蜍蝌蚪变态过程中全长、体质量和肝质量的变化

中华蟾蜍蝌蚪变态前期包括第 28,33 和 38 期;42 期为变态高峰期;46 期为尾完全吸收期。从表 1 可见,在 42 期时,中华蟾蜍蝌蚪全长达到最大值,与变态前期、尾完全吸收期蝌蚪均存在极显著差异。蝌蚪体质量在 38 期时达到最大值;变态前期蝌蚪的体质量与变态高峰期相比存在显著差异;尾完全吸收期蝌蚪的体质量与变态高峰期蝌蚪比较则无显著

差异。肝质量在蝌蚪 42 期时达到峰值;变态前期的 28 和 33 期的蝌蚪肝质量很小,与变态高峰期的蝌蚪存在极显著差异;随着蝌蚪的进一步发育,肝质量在 38 期时与变态高峰期蝌蚪无明显差异;尾吸收期时,肝质量下降明显,与变态高峰期出现显著差异。

表 1 中华蟾蜍蝌蚪变态过程中全长、体质量及肝质量的变化

Table 1 Changes of total length,body weight and liver weight in <i>B. gargarizans</i> tadpoles during metamorphosis			
发育分期 Developmental stage	全长/mm Total length	体质量/mg Body weight	肝质量/mg Liver weight
28	15.90±0.88 d	45.08±6.81 d	1.03±0.32 d
33	17.72±0.90 c	121.38±33.93 c	3.40±1.23 c
38	25.80±1.97 b	325.13±64.22 a	10.54±2.17 a
42	28.92±0.58 a	250.40±21.75 b	10.85±1.09 a
46	8.50±0.71 e	189.18±46.68 bc	7.75±1.41 b

注:不同小写字母表示 2 组数据间存在显著性差异($P<0.05$)。表 2 同。
Note:Different letters in the same file indicates that the difference between any two groups is significant ($P<0.05$). Table 2 is the same.

2.2 中华蟾蜍蝌蚪甲状腺的解剖学观察

38 期中华蟾蜍蝌蚪的甲状腺解剖学观察结果如图 1 所示。图 1 结果显示,38 期时,中华蟾蜍蝌蚪甲状腺位于心脏的背侧,关联骨Ⅱ的腹后侧,腮下

骨板的腹侧前端,介于 2 条颊舌骨肌之间,左右侧各 1 个。甲状腺有若干甲状腺滤泡聚集,为透明椭球形泡状结构。甲状腺滤泡上皮细胞层清晰可见,包绕形成透明椭球形的甲状腺滤泡腔。

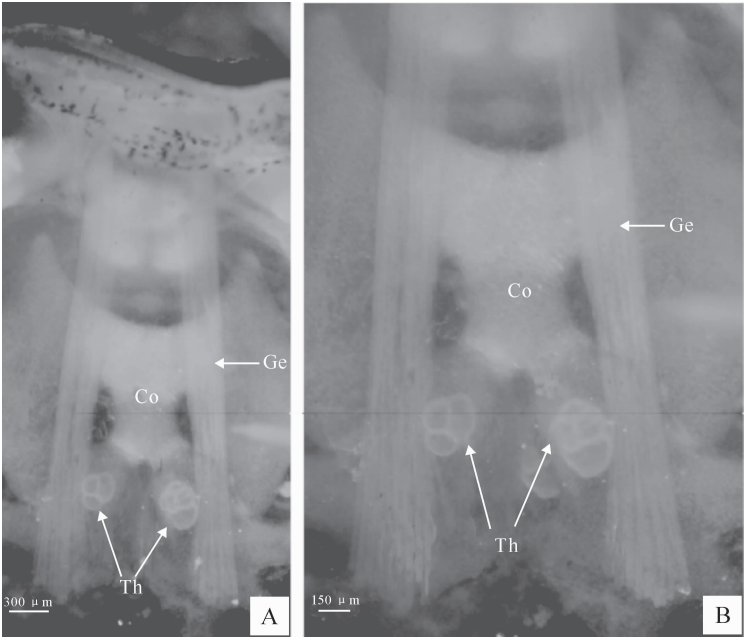


图 1 38 期中华蟾蜍蝌蚪甲状腺的解剖学观察

Th. 甲状腺;Co. 关联骨Ⅱ;Ge. 颊舌骨肌;图 2 同

Fig. 1 Anatomical observation of thyroid gland of *B. gargarizans* tadpole at the stage 38

Th. Thyroid gland;Co. Copula Ⅱ;Ge. Geniohyoideus;Same Fig. 2

2.3 中华蟾蜍蝌蚪甲状腺的组织学观察

中华蟾蜍蝌蚪 28,33,38,42 和 46 期发育分期的组织切片结果见图 2。各分期时甲状腺直径、滤泡直径及滤泡数量的测定结果见表 2。

观察 28 期的组织切片(图 2A、B)发现,此时,中华蟾蜍蝌蚪甲状腺已经形成,但直径很小,仅为 31.77 μm ;位于心脏的斜后方、腮下骨板的 1/2 至 2/3 处;甲状腺滤泡上皮细胞密集堆叠且着色很深;

可以观察到由滤泡上皮细胞包绕形成的滤泡,滤泡排列紧密但数量较少,滤泡腔内无胶质着色。
观察 33 期的组织切片(图 2C、D)发现,此时,中华蟾蜍蝌蚪甲状腺前端与心脏齐平,位于腮下骨板的 1/2 至 2/3 处,有少量结缔组织将甲状腺末端与腮下骨板连接起来;甲状腺直径较 28 期时明显增加,达到 159.80 μm ;单层排列的立方状甲状腺滤泡上皮细胞清晰可见;滤泡直径开始出现一定差异,个

别直径较大;滤泡数量增加但排列较松散,可以观察到滤泡腔内充满着色呈深红色、均一的胶质。

观察 38 期的组织切片(图 2E、F)发现,此时,中华蟾蜍蝌蚪甲状腺位于心脏的 1/3 至 2/3 处,后端有明显的结缔组织将甲状腺连接在腮下骨板的 1/2 至 2/3 处;此时的甲状腺较 33 期稍大,直径约为 187.92 μm ;甲状腺滤泡上皮细胞呈立方状,排列密集,与 33 期差异不大;滤泡数量有减少趋势,但滤泡直径有小幅增加,并且滤泡间直径的差异有所增加;滤泡内胶质充盈,着色较深。

观察 42 期的组织切片(图 2G、H)发现,此时,中华蟾蜍蝌蚪甲状腺末端与心脏前端齐平,前后端

均有结缔组织,将甲状腺包绕在腮下骨板的 1/2 至 2/3 处;甲状腺直径较大,达到 273.99 μm ;甲状腺滤泡上皮细胞仍为立方状,并且排列紧密;滤泡数量开始明显下降,且排列愈发密集,个别滤泡直径急剧增大,大多数滤泡直径缩小,相差悬殊;滤泡内胶质充盈,着色均匀。

观察 46 期的组织切片(图 2I、J、K)发现,此时,中华蟾蜍蝌蚪甲状腺位于心脏斜前方,由结缔组织包埋于腮下骨板的 3/5 至 4/5 处;甲状腺直径迅速减小,仅为 89.78 μm ;甲状腺滤泡上皮细胞呈扁平形,排列较之前松散;甲状腺滤泡直径及数量均迅速降低,且滤泡直径相近;滤泡内胶质充盈,着色较深。

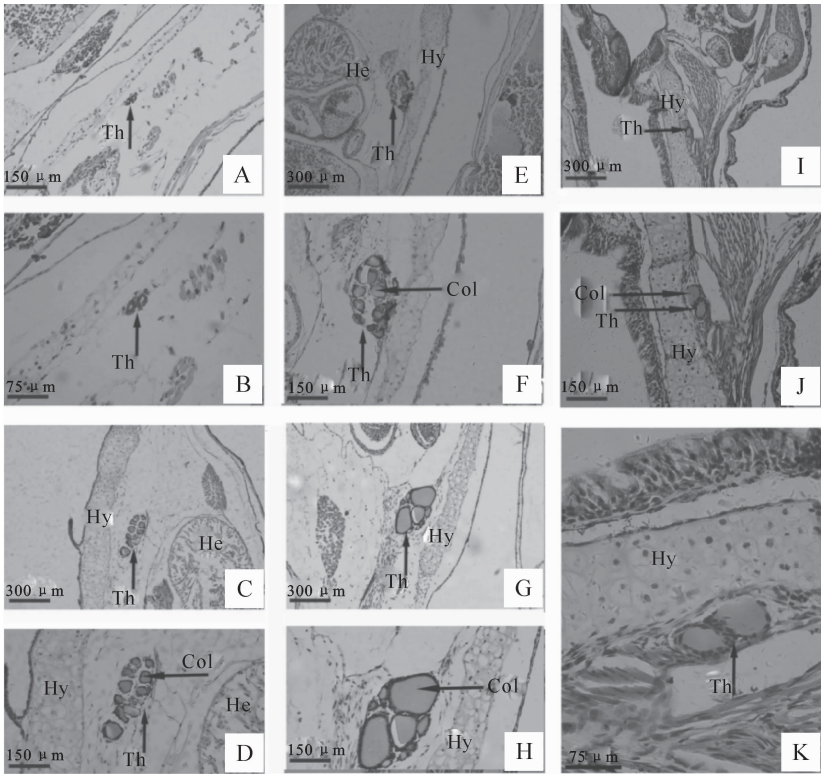


图 2 中华蟾蜍蝌蚪变态过程中甲状腺的组织结构观察

A,B. 28 期;C,D. 33 期;E,F. 38 期;G,H. 42 期;I,J,K. 46 期。He. 心脏;Hy. 腮下骨板;Col. 胶质

Fig. 2 Histological structures of thyroid glands of *B. gargarizans* tadpoles during metamorphosis

A,B. Stage 28;C,D. Stage 33;E,F. Stage 38;G,H. Stage 42;I,J,K. Stage 46. He. Heart;Hy. Hypobranchial plate;Col. Colloid

表 2 中华蟾蜍蝌蚪变态过程中甲状腺直径、滤泡直径及滤泡数量的变化

Table 2 Changes of thyroid gland diameter, follicle diameter and follicle number in *B. gargarizans* tadpoles during metamorphosis

发育分期 Developmental stage	甲状腺直径/ μm Diameter of thyroid gland	滤泡平均直径/ μm Mean diameter of follicle	滤泡最大直径/ μm Maximal diameter of follicle	滤泡数量 Number of follicle
28	31.77 $\pm$ 2.08 e	16.31 $\pm$ 1.12 b	17.18 $\pm$ 1.16 e	2.10 $\pm$ 0.32 c
33	159.80 $\pm$ 11.46 c	32.51 $\pm$ 10.97 b	53.26 $\pm$ 1.83 d	12.67 $\pm$ 5.24 a
38	187.92 $\pm$ 13.53 b	34.49 $\pm$ 10.05 b	63.12 $\pm$ 2.18 b	11.25 $\pm$ 3.57 a
42	273.99 $\pm$ 15.94 a	61.33 $\pm$ 44.52 a	137.43 $\pm$ 1.68 a	7.20 $\pm$ 2.53 b
46	89.78 $\pm$ 12.15 d	58.00 $\pm$ 0.95 a	58.18 $\pm$ 0.91 c	3.09 $\pm$ 1.38 c

2.4 中华蟾蜍蝌蚪变态过程中体质量、肝质量及全长与甲状腺相关指标的关系

从表 3 可以看出,在中华蟾蜍蝌蚪的变态发育过程中,除全长与滤泡平均直径无显著正线性相关

表 3 中华蟾蜍蝌蚪变态过程中体质量、肝质量、全长与甲状腺相关指标的相关系数

Table 3 Pearson correlation coefficients between thyroid glands,liver and body weights and total lengths in *B. gargarizans* tadpoles during metamorphosis

指标 Index	甲状腺直径 Diameter of thyroid gland	滤泡最大直径 Maximal diameter of follicle	滤泡平均直径 Mean diameter of follicle
体质量 Body weighth	0.627 **	0.518 **	0.527 **
肝质量 Liver weight	0.748 **	0.914 **	0.719 **
全长 Tetal length	0.816 **	0.654 **	0.110

3 讨 论

多数两栖动物的发育过程可以分为幼体期和成体期,两栖动物的水生幼体只有经历变态过程才能发育成陆生成体。变态过程是由甲状腺分泌的甲状腺激素所控制的。研究显示,两栖类动物幼体期的持续时间与甲状腺的机能活性存在一定关系^[14-15]。

甲状腺的发生与两栖动物幼体的发育类型密切相关。直接发育的两栖动物,如金线雨蛙,甲状腺的分化形成出现在胚胎发生期,此时分泌的甲状腺激素支配着胚胎不经幼体期而直接形成成体特征;胚胎期甲状腺的提前活化可能是这类两栖动物直接发育的原因^[12,16]。而变态类两栖动物甲状腺的发生均在幼体期。本研究结果显示,在中华蟾蜍蝌蚪幼体的 28 期,即可观察到甲状腺的存在,但滤泡内没有胶质物,提示此时的甲状腺可能不具备分泌甲状腺激素的功能;到 33 期时,蝌蚪的甲状腺滤泡中胶质充盈,滤泡上皮细胞呈立方状,可见此时的甲状腺已经具备了分泌甲状腺激素的能力。综上可以推论,甲状腺发生且具备分泌甲状腺激素的能力若出现在胚胎期,就会造成两栖动物的直接发育;若甲状腺发生在两栖动物幼体期,则幼体必须经历变态发育,才能完成从幼体向成体的过渡。

在不同种属的两栖动物中,甲状腺激素的峰值可能会出现在幼体发育的不同阶段^[12]。甲状腺激素峰值出现时期越早,幼体发育的持续时间越短;反之,甲状腺激素峰值出现的时期越晚,幼体发育持续时间则越长^[12]。幼体期较短的变态两栖类,如日本蟾蜍(*B. japonicus*)、棕色锄足蟾(*Pelobates fuscus*)等,在其出现前肢时,甲状腺分泌甲状腺激素的机能达到最强^[17];而幼体期较长的变态两栖类树蛙(*Rhacophorus arboreus*)、黄条蟾蜍(*Bufo calami-ta*)等,在其幼体尾部开始退化时,甲状腺机能才达

关系外,体质量、肝质量、全长与甲状腺直径和滤泡最大直径均呈极显著正线性相关。综上可见,蝌蚪体质量、肝质量、全长等外形指标可以反映其甲状腺发育指数和滤泡成熟的程度。

到峰值^[18];对于幼体期更长的变态两栖类牛蛙(*Rana catesbeiana*),则直至尾部退化时其甲状腺机能才达到顶峰^[19]。本研究结果显示,中华蟾蜍蝌蚪在 42 期时的甲状腺直径和滤泡直径达到最大,说明甲状腺机能在前肢出现时达到顶峰,这与中华蟾蜍幼体期发育持续时间较短的现实一致。

甲状腺体积、滤泡体积和滤泡上皮细胞的高度等均可以反映甲状腺的机能活性^[12]。本试验结果显示,中华蟾蜍蝌蚪全长、体质量及肝质量均与甲状腺直径及滤泡最大直径呈极显著正线性相关,说明蝌蚪体质量、肝质量、全长等均可以反映其甲状腺机能活性。但由于肝质量和体质量的测定需要高精度的电子天平甚至处死蝌蚪,野外测定比较繁琐;中华蟾蜍蝌蚪的全长从 28 期至 42 期持续增加,并于 42 期时达到峰值;之后由于幼体尾逐渐退化,全长也逐渐缩短;因此可以快捷地根据中华蟾蜍蝌蚪全长的变化判断其甲状腺的机能活性。

[参考文献]

[1] Nakajima K,Yaoita Y. Dual mechanisms governing muscle cell death in tadpole tail during amphibian metamorphosis [J]. Dev Dyn,2003,227(2):246-255.

[2] Das B,Cai L,Carter M G,et al. Gene expression changes at metamorphosis induced by thyroid hormone in *Xenopus laevis* tadpoles [J]. Dev Biol,2006,291(2):342-355.

[3] Buchholz D R,Heimeier R A,Das B,et al. Pairing morphology with gene expression in thyroid hormone-induced intestinal remodeling and identification of a core set of TH-induced genes across tadpole tissues [J]. Dev Biol,2007,303(2):576-590.

[4] Buchholz D R,Paul B D,Fu L,et al. Molecular and developmental analyses of thyroid hormone receptor function in *Xenopus laevis*, the African clawed frog [J]. Gen Comp Endocrinol, 2006,145(1):1-19.

[5] Buchholz D R,Tomita A,Fu L,et al. Transgenic analysis reveals that thyroid hormone receptor is sufficient to mediate the thyroid hormone signal in frog metamorphosis [J]. Mol Cell Bi-

- ol, 2004, 24(20): 9026-9037.
- [6] Trueb L, Hanken J. Skeletal development in *Xenopus laevis* (Anura: Pipidae) [J]. J Morphol, 1992, 214(1): 1-41.
- [7] Moskaitis J E, Sargent T D, Smith L H J, et al. *Xenopus laevis* serum albumin: Sequence of the complementary deoxyribonucleic acids encoding the 68- and 74-kilodalton peptides and the regulation of albumin gene expression by thyroid hormone during development [J]. Mol Endocrinol, 1989, 3(3): 464-473.
- [8] 王 念, 吴民耀, 王宏元, 等. 中华蟾蜍蝌蚪变态过程中消化系统的重构 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2010, 38(12): 7-12.
Wang N, Wu M Y, Wang H Y, et al. Digestive system remodeling during metamorphosis of *Bufo gargarizans* Tadpoles [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2010, 38(12): 7-12. (in Chinese)
- [9] Tata J R. Amphibian metamorphosis as a model for the developmental actions of thyroid hormone [J]. Mol Cel Endocrinol, 2006, 246: 10-20.
- [10] Weil M R. Changes in plasma thyroxine levels during and after spontaneous metamorphosis in a natural population of the green frog, *Rana clamitans* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1986, 62(1): 8-12.
- [11] 周景明, 秦晓飞, 秦占芬, 等. 多氯联苯 (Aroclor 1254) 对非洲爪蟾变态发育的影响 [J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1): 111-116.
Zhou J M, Qin X F, Qin Z F, et al. Effects of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) on metamorphic development of *Xenopus laevis* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2007, 2(1): 111-116. (in Chinese)
- [12] Jennings D H, Hanken J. Mechanistic basis of life history evolution in anuran amphibians: Thyroid gland development in the direct-developing frog, *Eleutherodactylus coqui* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1998, 111(2): 225-232.
- [13] Gosner K L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification [J]. Herpetologica, 1960, 16: 183-190.
- [14] Brown D D. The role of deiodinases in amphibian metamorphosis [J]. Thyroid, 2005, 15: 815-821.
- [15] Brown D D, Cai L. Amphibian metamorphosis [J]. Dev Biol, 2007, 306: 20-33.
- [16] Callery E M, Fang H, Elinson R P. Frogs without polliwogs: Evolution of anuran direct development [J]. Bio Essays, 2001, 23: 233-241.
- [17] Francois-Krassowska A. The structure of the thyroid gland in ontogenetic development of *Pelobates fuscus* (Laur.) [J]. Acta Biol Cracoviensia, 1982, 24: 67-72.
- [18] Francois-Krassowska A. The thyroid structure in ontogenetic development of *Bufo calamita* (Laur.) [J]. Bull Polish Acad Sci, 1989, 37: 125-132.
- [19] Hanken J, Jennings D H, Olsson L. Mechanistic basis of life-history evolution in anuran amphibians: Direct development [J]. Am Zool, 1997, 37: 160-171.

(上接第 6 页)

- [13] Sakakima Y, Hayakawa A, Tetsuro N, et al. Prevention of hepatocarcinogenesis with phosphatidylcholine and menaquinone-4; *In vitro* and *in vivo* experiments [J]. Journal of Hepatology, 2007, 47(1): 83-92.
- [14] Hartmann P, Szabo A, Eros G, et al. Anti-inflammatory effects of phosphatidylcholine in neutrophil leukocyte-dependent acute arthritis in rats [J]. European Journal of Pharmacology, 2009, 622(1/2/3): 58-64.
- [15] Fast D G, Vance D E. Nascent VLDL phospholipid composition is altered when phosphatidylcholine biosynthesis is inhibited: evidence for a novel mechanism that regulates VLDL secretion [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1995, 1258(2): 159-168.
- [16] Gimenez R, Aguilar J. Cytidine (5') diphosphocholine-induced decrease in cerebral platelet activating factor is due to inactivation of its synthesizing enzyme Cholinephosphotransferase in aged rats [J]. Neuroscience Letters, 2001, 299(3): 209-212.
- [17] Laszlo, Renata. Beneficial effects of phosphatidylcholine during hindlimb reperfusion [J]. Journal of Surgical Research, 2007, 139(1): 45-50.
- [18] Wilhelm J. Next-generation DNA sequencing techniques [J]. New Biotechnology, 2009(25): 195-203.
- [19] Tomohito G, Mitsuo T, Kenji S. Altered mouse cholinephosphotransferase gene expression in kidneys of type 2 diabetic KK/Ta mouse [J]. Metabolism, 2004, 53(7): 842-846.
- [20] Arsun B, Jennifer N H, James H W, et al. Type 2 diabetes locus on 12q15 further mapping and mutation screening of two candidate genes [J]. Diabetes, 2001, 50: 204-208.
- [21] Akech J, Somdutta S R, Das S K. Modulation of cholinephosphotransferase activity in breast cancer cell lines by Ro5-4864, a peripheral benzodiazepine receptor agonist [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 333: 35-41.
- [22] Lee M H, Hong I, Mingoo K, et al. Gene expression profiles of murine fatty liver induced by the administration of valproic acid [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2007, 220: 45-59.