

2018

读书报告

报告人：胡俊仪

时间：2018.6.10



Characterization of appetite-regulating factors in platyfish, *Xiphophorus maculatus* (Cyprinodontiformes Poeciliidae)

Paul M. Pitts^a, Hélène Volkoff^{a,b,*}

^a Department of Biology, Memorial University of Newfoundland, St. John's, NL A1B 3X9, Canada

^b Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, St. John's, NL A1B 3X9, Canada



Appetite regulating factors in pacu (*Piaractus mesopotamicus*): Tissue distribution and effects of food quantity and quality on gene expression

Hélène Volkoff^{a,b,*}, Rafael Estevan Sabioni^c, Luiz Lehmann Coutinho^d, José Eurico Possebon Cyrino^c

^a Department of Biology, Memorial University of Newfoundland, St. John's, NL A1B3X9, Canada

^b Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, St. John's, NL A1B3X9, Canada

^c Departamento de Zootecnia, Setor de Piscicultura, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 13418-900 Piracicaba, SP, Brazil

^d Departamento de Zootecnia, Laboratório de Biotecnologia Animal, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 13418-900 Piracicaba, SP, Brazil



目 录

1

背景介绍

2

研究方法和思路

3

研究内容和结果

4

结论

01

背景介绍

在哺乳动物和鱼类中，能量平衡的调节是一个复杂的过程，涉及许多中枢和外周内分泌信号因子。神经肽Y（NPY）和食欲肽（Orexin）等摄食肽刺激摄食，而胆囊收缩素（CCK）和可卡因苯丙胺调节转录物（CART）等食欲抑制因子抑制摄食。

神经肽Y（NPY）是哺乳动物和鱼类中最重要的食欲刺激因子之一。

Orexins由两种形式组成，orexin-A和orexin-B来源于相同的前体preproorexin，它们是刺激哺乳动物和鱼类摄食行为的脑肽，orexin-A比orexin-B更有效。

胆囊收缩素（CCK），最初从动物的上段肠中提取，以后发现大脑皮层、海马、杏仁核、下丘脑等部位均存在。其外周作用已比较清楚，可刺激胃分泌胃酸，肝脏分泌胆汁，抑制回肠吸收钠和水，刺激胰岛释放胰岛素和胰高血糖素。其中枢作用，有资料显示，它与摄食行为有关，与肥胖症也有关。还参与痛觉调节。

可卡因苯丙胺调节转录物（CART），下丘脑分泌的瘦蛋白依赖的内源性饱食肽，其抑制摄食的作用是通过下丘脑和脑干参与调节食欲和代谢的神经元，引起肾上腺皮质酮分泌所致。在几种鱼类例如黄鱼（Volkoff和Peter，2000），鲶鱼（Kobayashi等，2008）中，CART起着抑制摄食的作用。

02

研究方法思路

主要研究内容：

为了阐明食欲调节因子在月光鱼摄食中的作用，作者研究了：

- 1.腹腔注射CCK和Orexin-A对摄食行为的影响。
- 2.组织分布。
- 3.禁食对CCK， CART， NPY和Orexin-A mRNA表达的影响。

为了排除可能由性别导致的差异，比较了雄性和雌性的差异。

实验对象:

月光鱼(*Xiphophorus maculatus*), 淡水杂食性鱼类, 1.5–3 g, 3.8–5.3 cm ,
每桶15尾, 水温25°C, 光暗周期16h:8h, 每天饱食投喂一次(13:00),
暂养2周。



腹腔注射和摄食行为观察：

准备：

在为期2周的适应期之后，鱼被放置在由穿孔网格分成3个隔间的水箱中，每个隔间里有一条鱼。隔间允许鱼在鱼缸里看到其他鱼的存在（从而避免压力），但也能准确地量化每条鱼所吃的饲料粒数。鱼已经适应了该环境72小时。

腹腔注射：

实验鱼被麻醉后腹腔注射10 μ l生理盐水/硫酸化的CCK-8 (50 ng/g)/orexin-A (100 ng/g), 注射后，鱼被放回水箱隔间中，并被允许恢复15分钟。

摄食行为观察：

一个水箱中的3尾鱼同时注射试剂，15分钟后投喂颗粒饲料（13:00），观察并记录它们的进食行为，观察时间为30分钟。

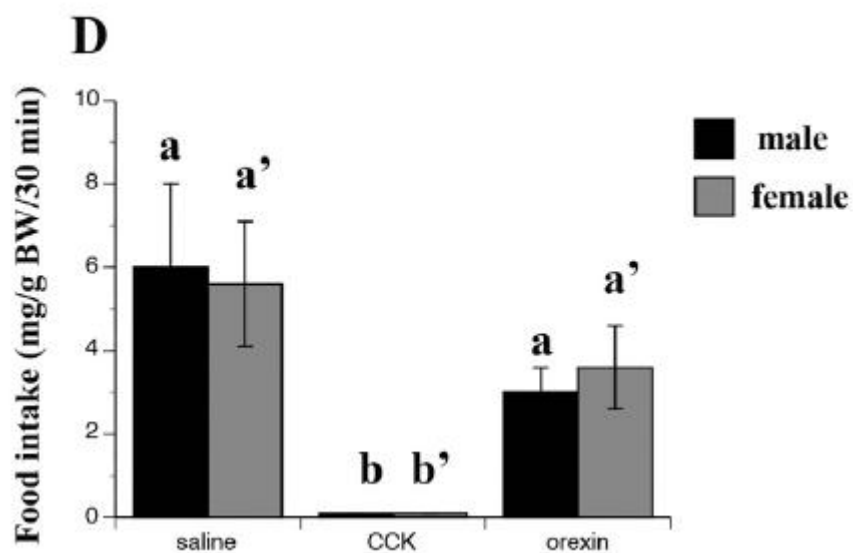
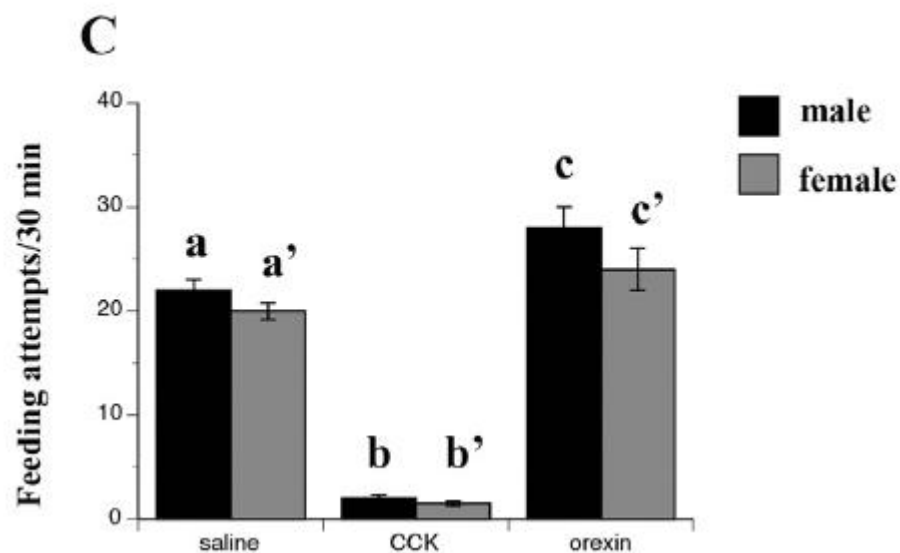
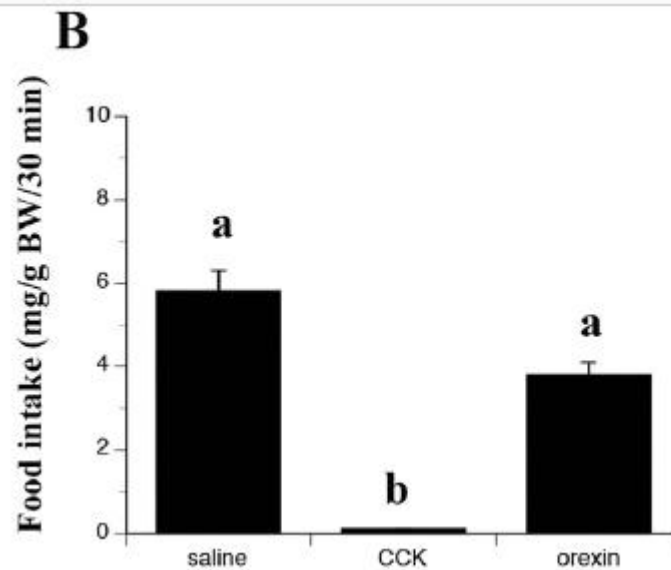
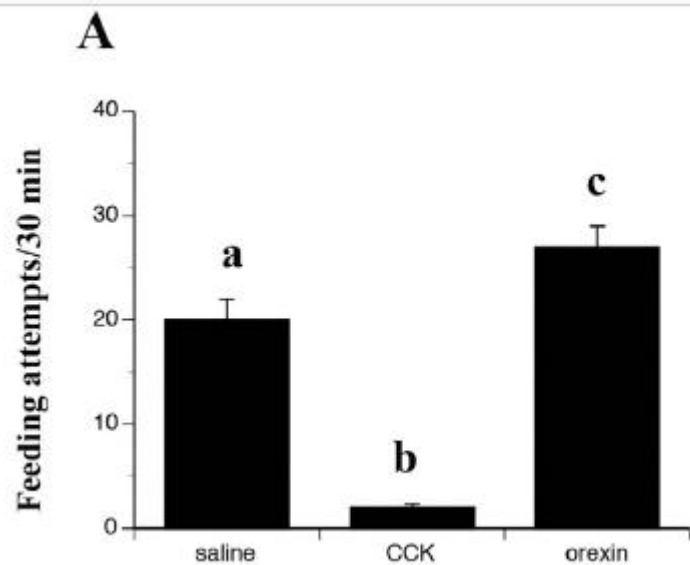
禁食实验:

48尾鱼随机分到4个水池中，每池12尾，雌雄1: 1，暂养2周。2池鱼每天饱食投喂一次（13:00），另2池鱼不喂食。10天后取样。取脑和肠组织，保存在RNAlater，储存在-20℃。

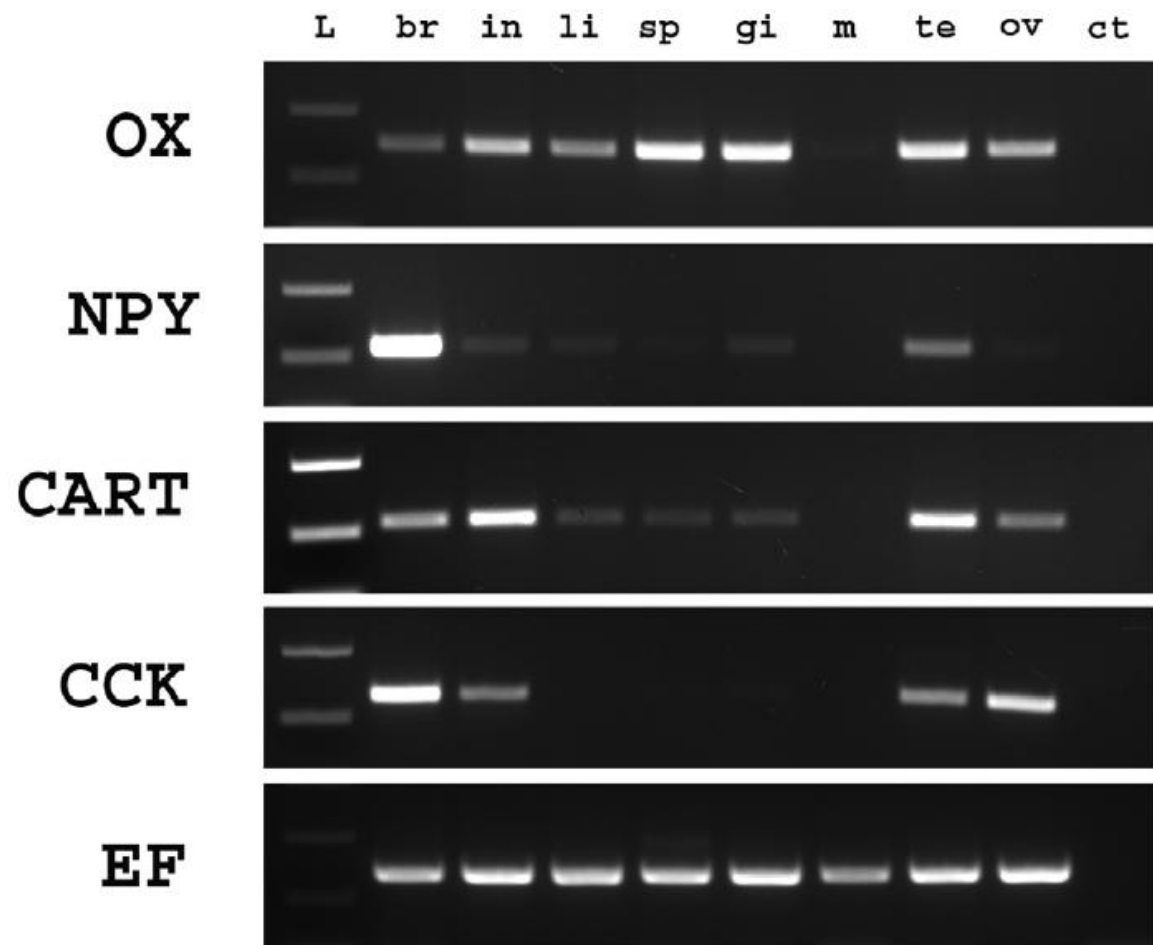
03

研究内容和结果

1、腹腔内注射CCK和orexin对摄食的影响



2、组织分布



L, Ladder

br, brain

in, intestine

li, liver

sp, spleen

gi, gills

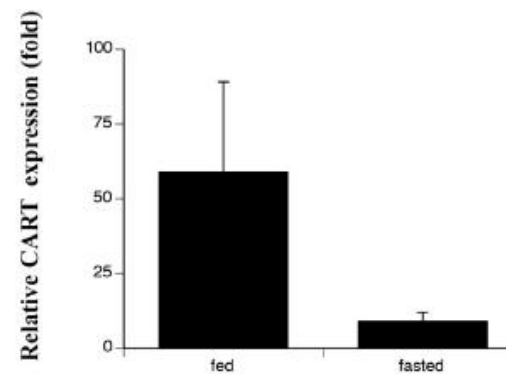
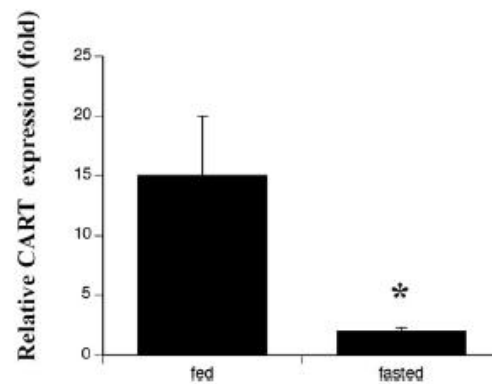
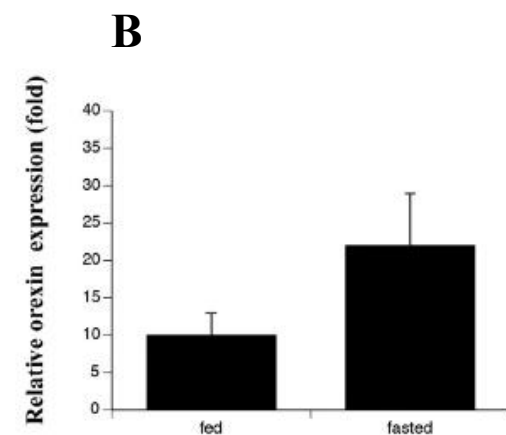
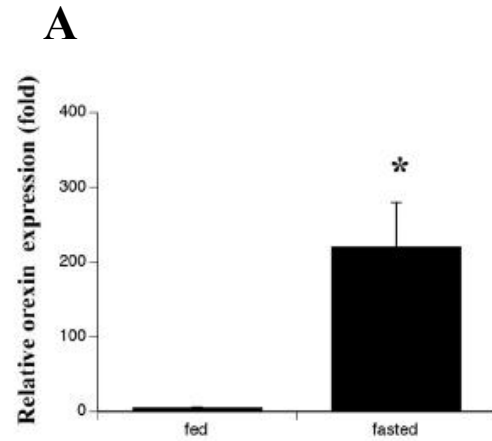
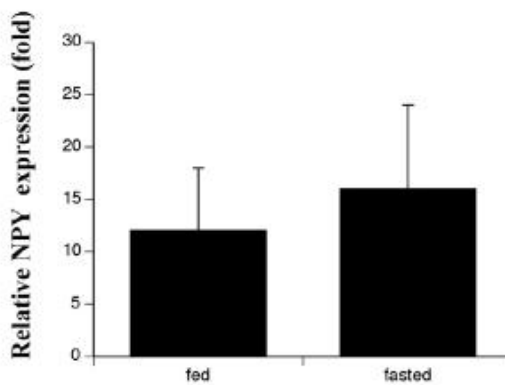
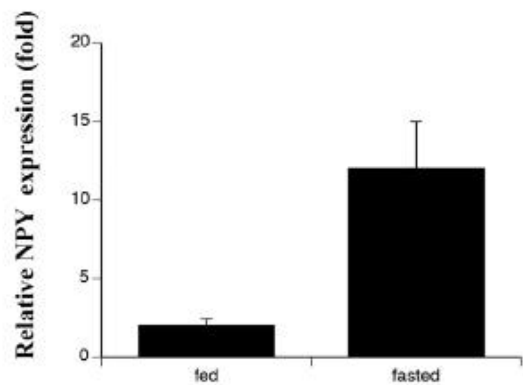
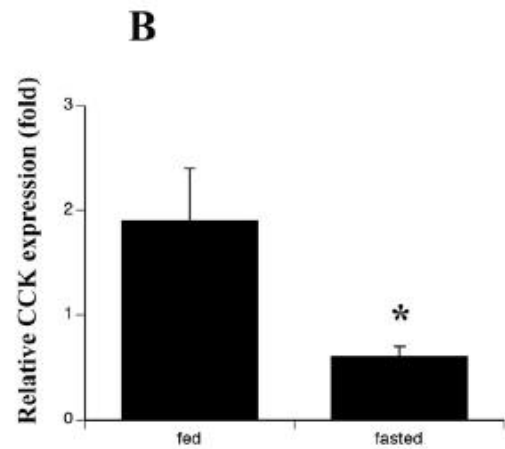
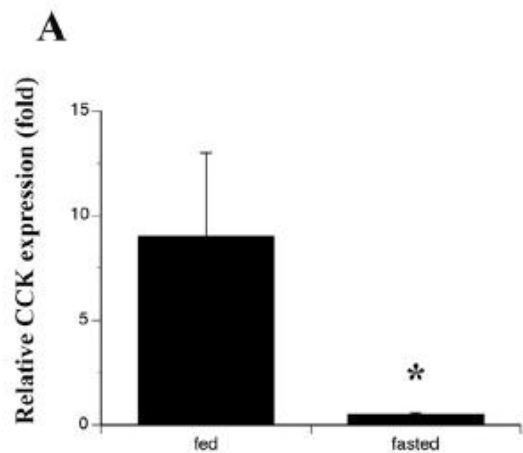
m, muscle tissue

te, testes

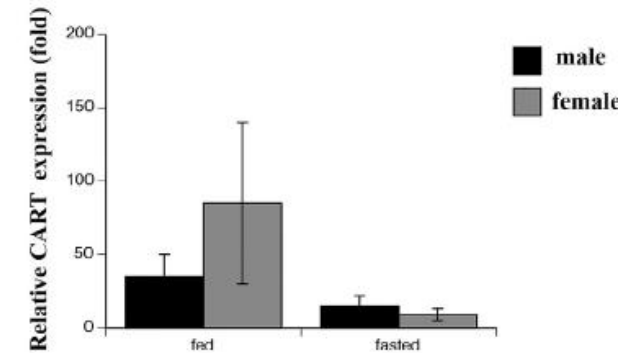
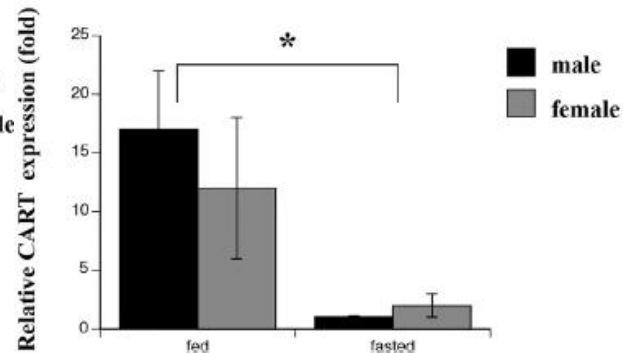
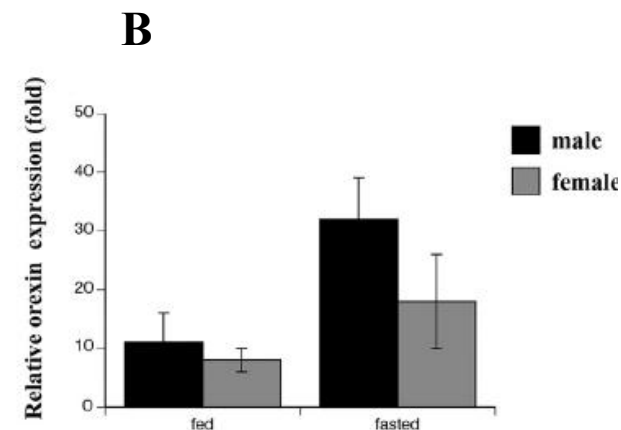
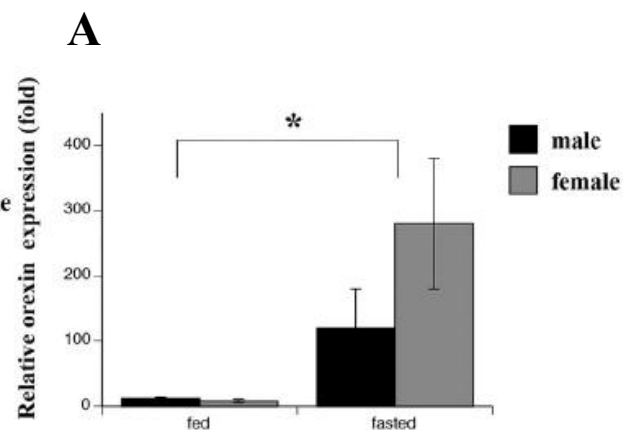
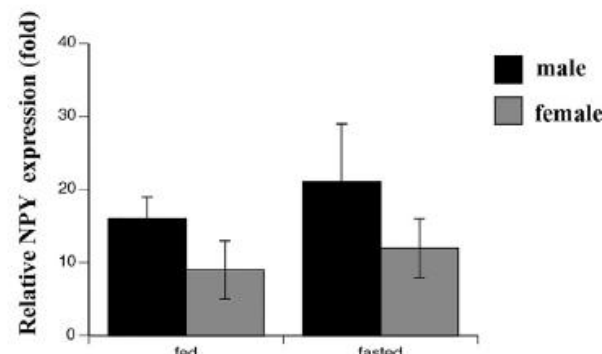
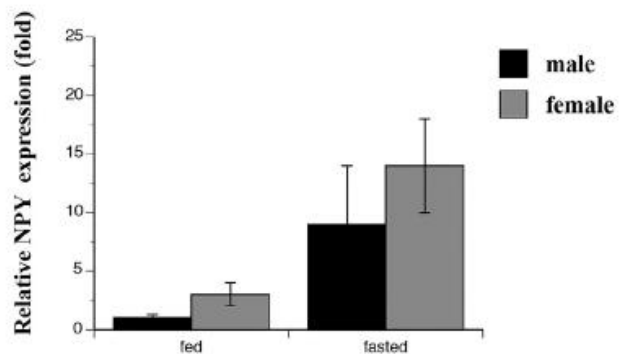
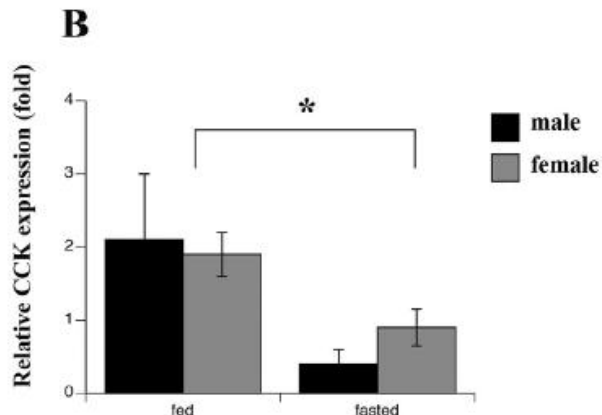
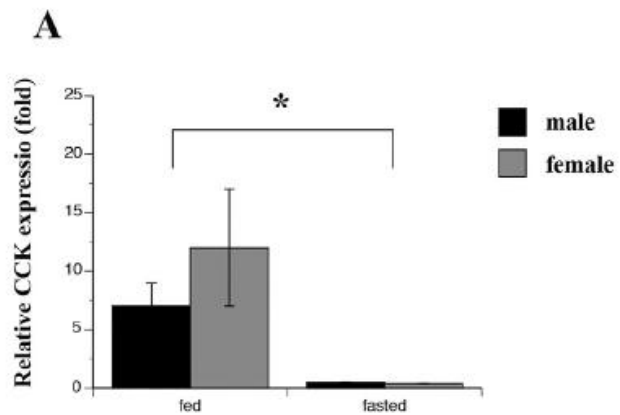
ov, ovaries

ct, control (no cDNA).

3、禁食对脑和肠转录表达的影响



3、禁食对脑和肠转录表达的影响



04

结论

总之，研究结果表明CCK、orexin、NPY和CART都参与了新月鱼的摄食调控行为，并且没有明显的性别差异。

在这项研究中使用的鱼都是相同的大小/年龄，且不在繁殖期，因此研究结果没有明显的性别差异。但是当鱼类将能量从生长转移到生殖过程时，食欲调节因子的表达将有明显的性别差异。此外，研究食欲肽和参与繁殖的调节因子之间的相互作用，可能为鱼类和其他脊椎动物的能量平衡调节提供有价值的信息。

研究方法和思路

实验对象:

锯腹脂鲤(Pacu fish), 属淡水杂食性鱼类。锯腹脂鲤幼鱼 [62.4 ± 2.4 g, TL (total length) 14.8 ± 0.3 cm], 每日一次饱食投喂（在11:00和12:00之间），暂养两周。

实验方法:

1. 禁食实验

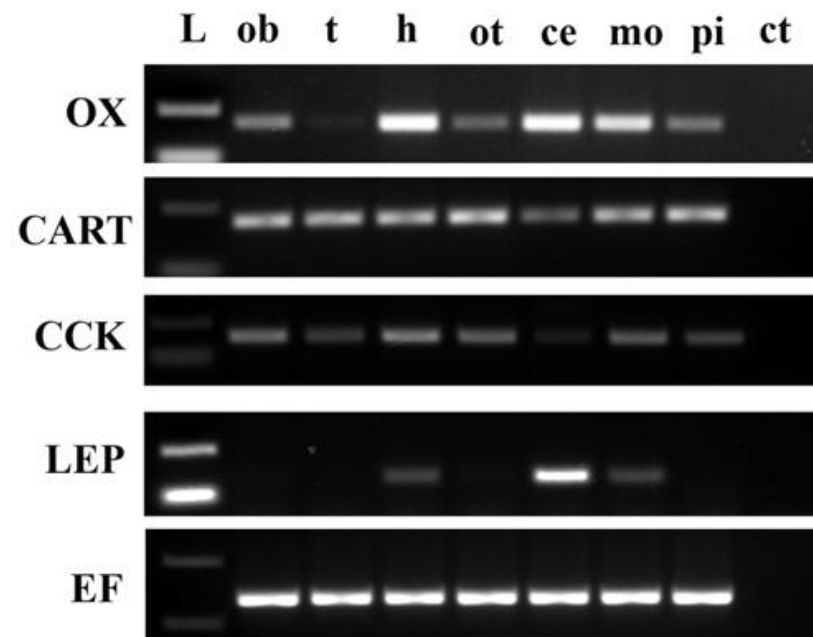
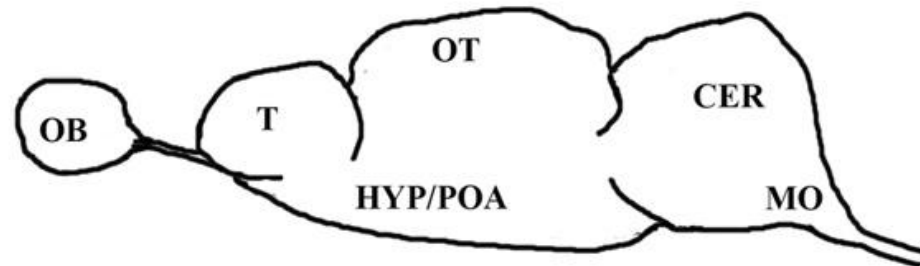
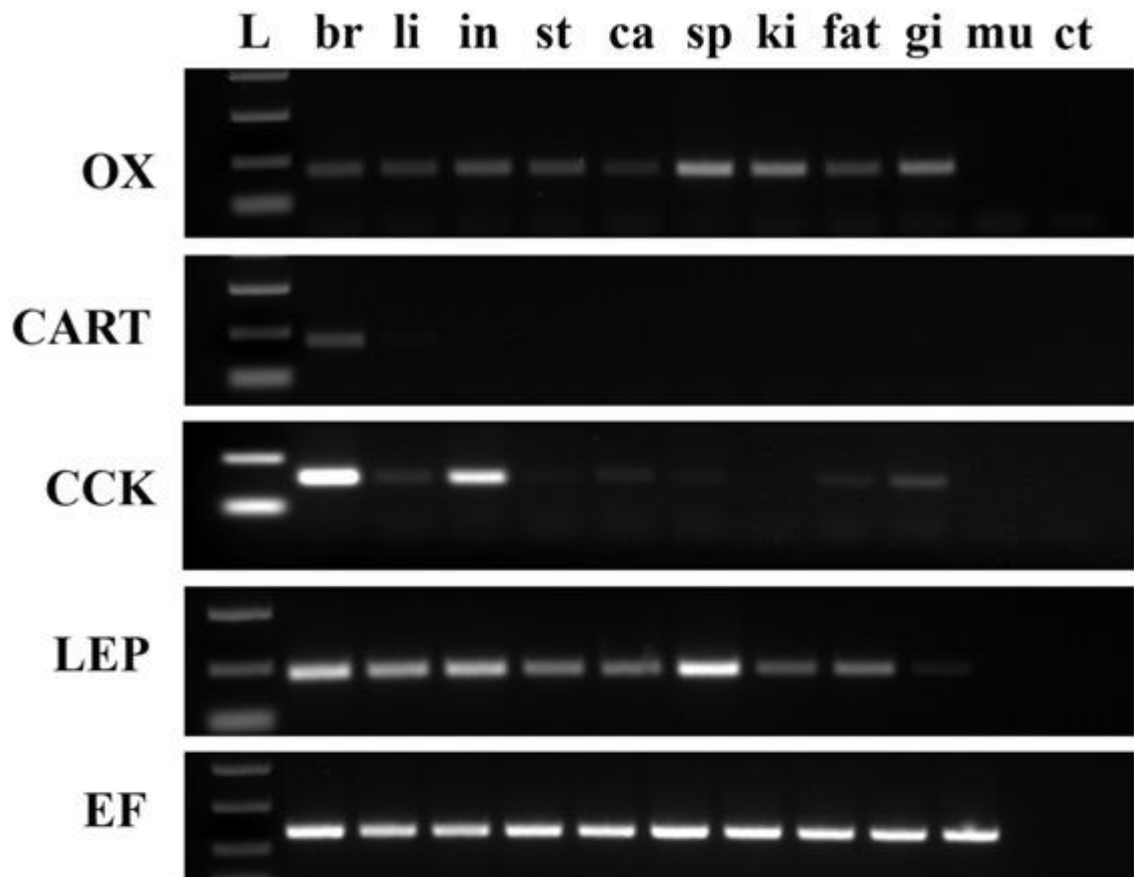
暂养2周后, 3桶鱼（20尾/桶）继续正常喂食, 3桶鱼禁食七天。在采样当天, 喂养的鱼在正常喂食时间喂养, 并在喂食后30分钟取样。

2. 摄食研究 (Periprandial study)

将96只幼鱼随机放入10个养殖桶中, 暂养2周。在实验当天, 在喂食时间前1h从2个桶中随机选10条鱼取样。在喂食时间, 4桶鱼喂食, 4桶鱼禁食; 然后在喂食时间和喂食后1h后取样。取脑和肠。



研究结果--组织分布



研究结果--禁食实验中CART,OX,CCK,LEP mRNA表达

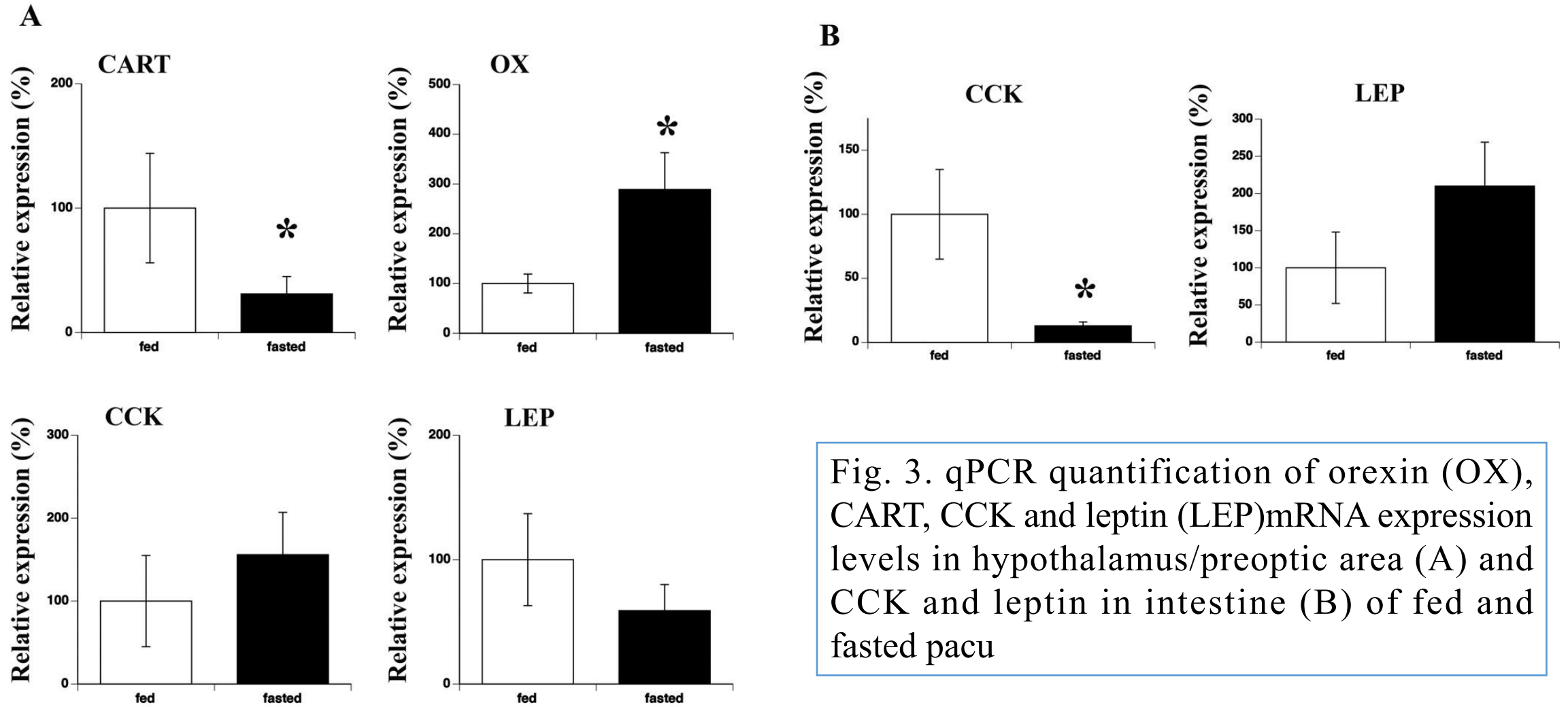
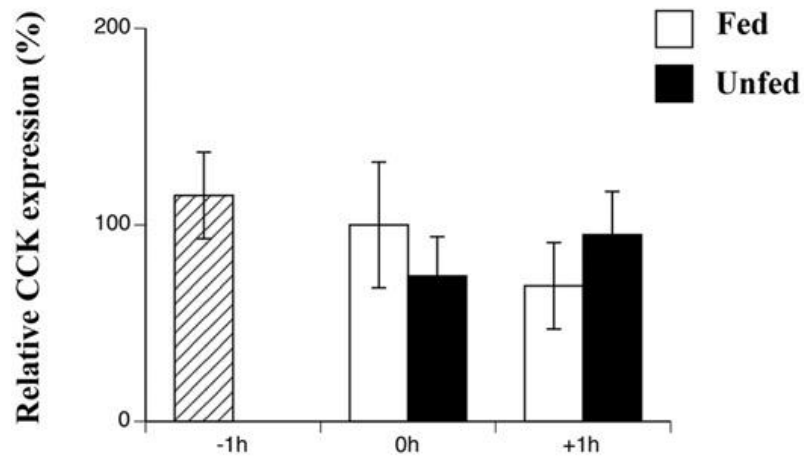
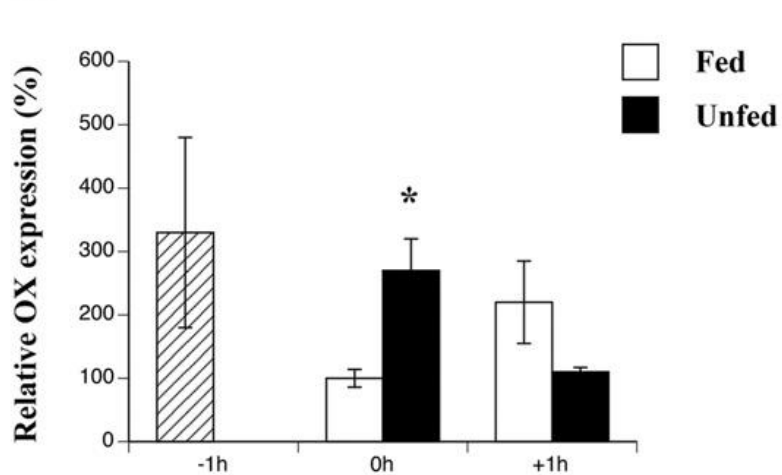


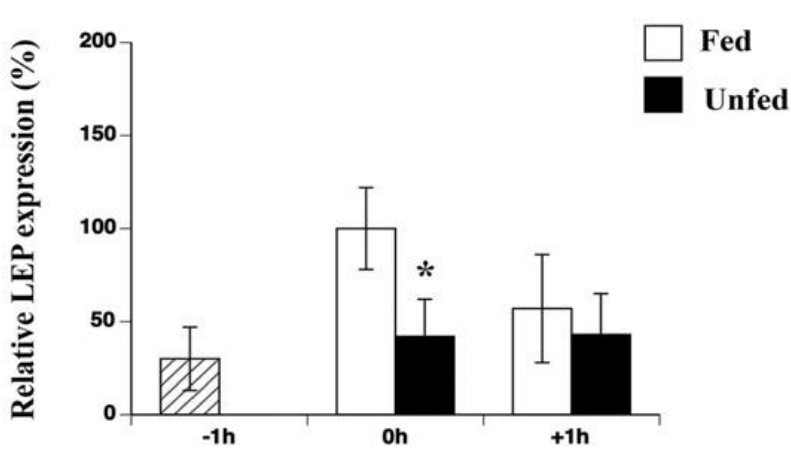
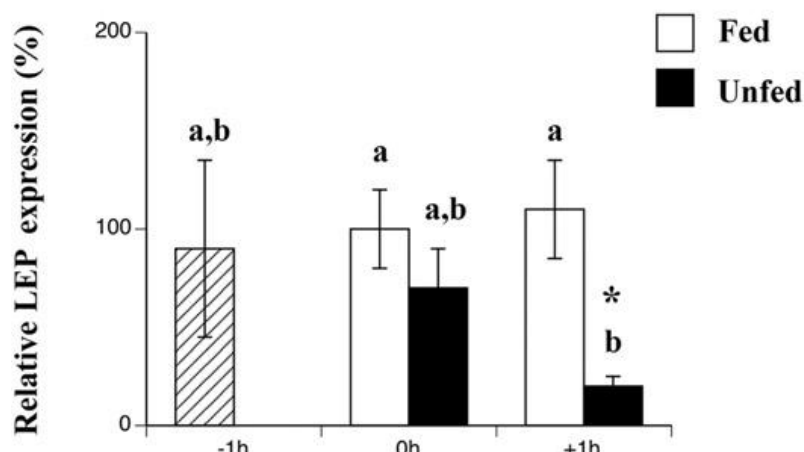
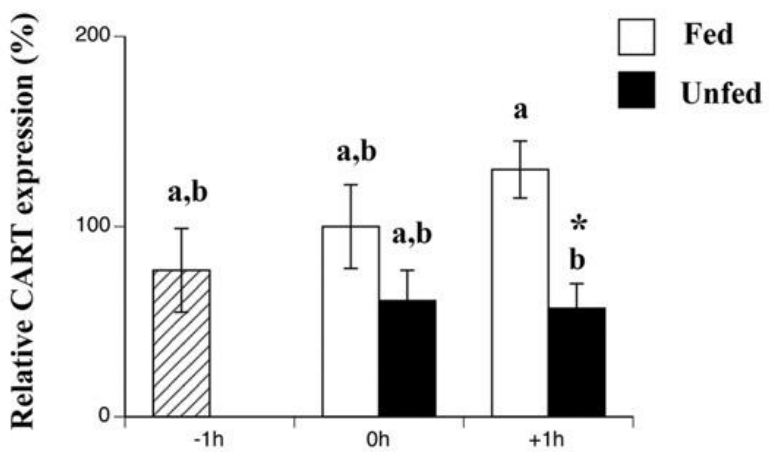
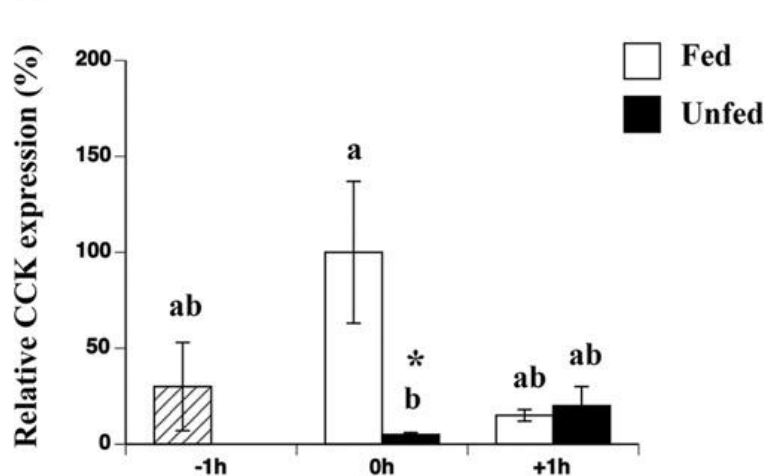
Fig. 3. qPCR quantification of orexin (OX), CART, CCK and leptin (LEP)mRNA expression levels in hypothalamus/preoptic area (A) and CCK and leptin in intestine (B) of fed and fasted pacu

研究结果--CART,OX,CCK,LEPmRNA表达

A



B



结论

本研究发现，Orexin, CCK和 leptin 广泛分布于脑和外周组织中，CART大多在脑中表达。Orexin和CART在脑中的表达均受禁食影响。在禁食后，CCK的表达量在小肠中显著下降，但是在下丘脑中的表达量没有显著变化，表明CCK是锯腹脂鲤的外周食欲调节因子。Leptin没有受到7天禁食的影响，但在短时禁食下，在下丘脑和肠中均表达量下调，表明leptin在锯腹脂鲤中的作用是短期饲喂调节剂。总体而言，该研究结果表明Orexin, CART, CCK 和 leptin 均参与了锯腹脂鲤摄食的生理过程。

总结与思考

两篇文献的结果均表明Orexin和CCK能够促进摄食，CART和NPY能够抑制摄食，这与哺乳动物和其他鱼类的研究结果相同。

但是，组织表达结果两篇文献略有不同：CCK在月光鱼中，主要在脑、肠道和性腺中表达，在其他外围组织中很少或根本没有表达；而在锯腹脂鲤中，CCK在脑、肠道中高表达，在其他外围组织中也有表达。CART广泛分布于月光鱼组织中，而在锯腹脂鲤中，只在脑、肠中表达。组织表达的差异还需要进一步研究。

2018

谢谢观看