

γ -氨基丁酸-A 型受体拮抗剂对翘嘴鳊摄食及糖代谢的影响

谢 爽 何 磊 梁旭方 何 珊 黄 东

华中农业大学水产学院/华中农业大学鳊鱼研究中心/

淡水水产健康养殖湖北省协同创新中心/农业部淡水生物繁育重点实验室, 武汉 430070

摘要 以肉食性鱼类翘嘴鳊(*Siniperca chuatsi*)为研究对象,分别脑室注射二甲基亚砜(DMSO)+生理盐水(简称D)、DMSO+125 μg γ -氨基丁酸 GABA(简称DG)、DMSO+125 μg GABA+20 μg Bicuculline(GABA_A受体拮抗剂荷包牡丹碱)(简称DGB),研究GABA对翘嘴鳊摄食及糖代谢的影响。结果显示,DGB组的摄食量在0.5 h、2 h相比于D组(对照组)显著性下降,同时促食欲相关基因 *npy*、*agrp* 分别在0.5 h和2 h下调引起的抑制食欲与翘嘴鳊的低摄食保持一致。DG组的血糖含量相对于对照组显著下降,胰高血糖素显著上升,但 *cs*、*pc*、*pfk1* 基因的 mRNA 水平却并无显著性差异。试验结果表明,GABA_A受体拮抗剂能够抑制GABA与其受体结合从而抑制翘嘴鳊摄食,但GABA与糖代谢的偶联关系并不显著。

关键词 γ -氨基丁酸;受体拮抗剂;翘嘴鳊;摄食;糖代谢

中图分类号 S 917: Q 959.483 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2018)05-0104-06

γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid,简称GABA)是一种非蛋白氨基酸,又称氨酪酸。1949年,Steward等^[1]首次从马铃薯茎块中提纯出GABA,其分子式为 $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2$,相对分子质量为103.12。GABA作为一种重要的抑制性神经递质,普遍存在于动植物及微生物体内,在哺乳动物脑中含量最高,大量分布在丘脑、海马、基底神经节等区域,参与多种生理活动^[2-3]。GABA主要是通过与其受体结合发挥生理作用,GABAR根据其对激动剂和抑制剂的敏感性分为GABA_{AR}、GABA_{BR}、GABA_{CR}^[4],其中GABA_{AR}属于离子型通道受体,发挥主要抑制作用,对痉挛剂荷包牡丹碱(bicuculline)等GABA受体拮抗剂敏感。随着对GABA研究的深入,发现GABA在镇静^[5]、抗失眠和抑郁^[6]、激素调节^[7]等方面具有重要作用。GABA作为哺乳动物中一种重要的摄食调控因子也早有报道^[8-9]。食欲调节是一个复杂的过程,下丘脑作为食欲调节中枢也早有报道。在下丘脑室旁核(PVN),AGRP(小鼠相关蛋白)/NPY(神经肽Y)能通过抑制大量激活的GABA能神经元增强摄食,同时激活GABA

神经元刺激食欲^[10]。例如在小鼠的下丘脑注射GABA,可以显著提高小鼠的摄食量^[11]。李庆凯等^[12]通过对泌乳母猪口服GABA后发现,GABA能够显著提高泌乳母猪的采食量并呈剂量依赖性变化。同时,GABA在鱼类中也发挥着重要生理作用,在建鲤饲料中添加不同剂量的GABA(0、30、60、90、120、150 mg/kg)饲养8周后发现,其增重率相对于对照组显著升高,且60~150 mg/kg添加组的摄食率也显著升高^[13]。摄食作为一种重要的经济性状,直接影响到养殖业的经济效益,目前我们对摄食调控机制的认识大都来自哺乳动物,但在硬骨鱼类中,GABA对摄食的调控机制还知之甚少。

传统的理论认为动物摄食与糖脂代谢和维持机体能量平衡具有密切关系,一般情况下,动物高血糖后会抑制摄食^[14]。鱼类作为天生的“糖尿病患者”,尤其是肉食性鱼类对糖的耐受性很低,因此,研究鱼类糖代谢与摄食因子间的关系就显得尤为重要。现有研究表明,GABA在绝大多数哺乳动物中具有促进摄食的作用^[8-9],而在鱼类中对摄食的研究还很少见,同时GABA对摄食的作用与糖代谢是否偶联也

收稿日期:2017-12-30

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31772822);国家重点基础研究(973计划)项目(2014CB138601)

谢爽,硕士研究生。研究方向:鱼类营养与生理。E-mail: xieshuangyy@126.com

通信作者:梁旭方,博士,教授。研究方向:鱼类摄食与代谢机制及应用技术。E-mail: xufang_liang@hotmail.com

未曾有过报道。本试验以肉食性鱼类翘嘴鲌为试验鱼,基于其特殊的食性,在已有翘嘴鲌驯食性状、相关转录组数据库基础上,采用动物生理学、分子生物学等技术手段,通过脑室注射的方法研究 GABA 对翘嘴鲌摄食量和关键食欲因子基因以及糖代谢相关基因的影响,以期丰富鱼类摄食调控和糖代谢研究机制,为后期开发水产饲料添加剂积累基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验用鱼及养殖条件

本试验用到的翘嘴鲌购于湖北省武汉市四汇水产科技有限公司。正式试验开始前,将 150 尾翘嘴鲌(25~35 g)随机分配在华中农业大学水产学院养殖试验基地的 2 个养殖缸中(350 L)暂养 2 周使其适应试验环境。在适应期间,每天早上 9 点和下午 5 点用麦瑞加拉鲮(体质量:0.16±0.02 g)饱食投喂翘嘴鲌。

1.2 试验设计

本试验所用的 GABA 及 GABA_A 受体拮抗剂,均购自美国 Sigma 生化试剂有限公司。翘嘴鲌暂养结束后挑选规格均一的个体平均分成 3 组,每组设 3 个平行,每个平行 12 尾。正式试验前先进行 24 h 饥饿处理,试验开始时用 MS222(质量浓度为 200 mg/L)将翘嘴鲌麻醉直至其失去平衡后称质量,测量全长。用 25 μ L 量程的微量进样器脑室注射不同剂量的药品,D 组(对照组)注射 2 μ L DMSO 和 3 μ L 的生理盐水,DG 组注射 2 μ L DMSO 和 3 μ L 溶解有 125 μ g GABA 剂量的生理盐水,DBG 组共注射 2 μ L DMSO(溶解 20 μ g 荷包牡丹碱)和 3 μ L 溶解有 125 μ g GABA 剂量的生理盐水。本研究所选取注射的 GABA 为 125 μ g 剂量,都是基于前人的研究^[15-17]以及笔者所在实验室前期的研究基础^[18]。注射后试验鱼无死亡,随后转移到每缸放有 100 尾饵料鱼的养殖缸中,给予充足的溶解氧。

1.3 摄食量及血糖的统计

通过定点拍照和计数养殖缸中 0.5、2 h 剩余的饵料鱼数量,统计翘嘴鲌每个时间段摄食量,计算出单尾翘嘴鲌在注射不同组试剂 0.5、2 h 的累积摄食量。公式如下:摄食量(food intake, FI) = 初始的食物质量(initial dry food weight, Wi) - 剩余的食物质量(remaining dry food weight, Wf) \times 相关因子(correction factor, F)^[19]。

注射 0.5 和 2 h 后,断尾取血,血液仪测量,同

时每缸随机挑取 5 尾采集血样离心后取血清,取样鱼体置于 -80 $^{\circ}$ C 保存待后续试验分析。

1.4 相关基因表达水平检测

利用 RNAiso Plus 法提取翘嘴鲌脑组织和肝脏组织的总 RNA,再利用 TaKaRa 公司的两步法去基因组 DNA 反转录试剂盒进行反转录,采用实时荧光定量 RT-qPCR 方法测定翘嘴鲌脑中神经肽 Y(neuropeptide Y, *npy*)、刺鼠相关蛋白(agouti-related protein, *agrp*)、原阿片黑皮素(proopiomelanocortin, *pomc*)以及翘嘴鲌肝脏中柠檬酸合酶(citrate synthase, *cs*)、丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase, *pc*)、6-磷酸果糖激酶 1(6-phosphofructokinase 1, *pfk1*)基因的 mRNA 表达水平。每个定量 PCR 反应中包含 10 μ L SYBR 的荧光染料混合物(Toyobo, Japan),0.4 μ L 的上下游引物和 1 μ L 的模板 cDNA。PCR 的程序是 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 58 $^{\circ}$ C(不同引物退火温度不同)退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 40 个循环,选用从翘嘴鲌中筛选出来的内源性的看家基因 *rpl13a* 来校正模板量,每个样品设置 3 个重复。PCR 产物的特异性都是通过熔解曲线分析证实,基因的表达水平用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的方法分析得到^[20]。特异基因的编码序列来源于翘嘴鲌短的核苷酸序列打包测序所得的转录组序列结果^[21]。使用 Primer Premier 5.0 软件进行荧光定量引物设计,引物序列见表 1。

表 1 本研究实时定量 PCR 引物

Table 1 Primers for real-time PCR used in this study

引物 Primer	序列(5'-3') Sequence (5'-3')
rpl13a-F	TATCCCCCACCTATGACA
rpl13a-R	ACGCCAAGGAGAGCGAACT
agrp-F	GAGCCAAGCGAAGACCAGA
agrp-R	GCAGCACGGCAAATGAGAG
npy-F	GTTGAAGGAAAGCACAGACA
npy-R	GCTCATAGAGGTTAAAGGGG
pomc-F	GTGTTCATCCTCGTTACTGC
pomc-R	GCGACGCTCCTATTCAAT
cs-F	GAATGCCACCTACTTCCCTTGT
cs-R	CCCCTCATACCTCCATAAAACC
pc-F	GTCCCGTTCCAGATGC
pc-R	GTCCCGTTCCAGATGC
pfk1-F	GCTACCATCAGCAACAACG
pfk1-R	GCCACAGAATCCACCCAT

1.5 数据统计与分析

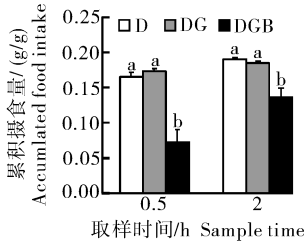
试验数据采用“平均值 \pm 标准误”表示(Mean \pm S.E.)。先使用 SPSS 18.0 软件的单样本 *t* 检

验(One sample t-test)来检测数据分布的正态性,再对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA)。方差同质性分析后再将平均值通过Duncan's算法进行多重比较分析,以 $P < 0.05$ 为差异显著性标准。

2 结果与分析

2.1 脑室(intracerebroventricular,ICV)注射 GABA 和荷包牡丹碱对翘嘴鲮摄食量的影响

翘嘴鲮脑室注射 125 μg 剂量的 GABA 后(DG 组),D 组(对照组)相比摄食量在 0.5 h 和 2 h 都没有显著性变化($P > 0.05$),而共注射 GABA 和荷包牡丹碱(GABA_A 受体拮抗剂)(DGB 组)后,相对于 D 和 DG 组,摄食量在 0.5 h 和 2 h 都呈显著下降($P < 0.05$)(图 1)。



注:不同的字母表示有显著差异($P < 0.05$)。D 组:二甲基亚砷+生理盐水;DG 组:二甲基亚砷+125 μg γ -氨基丁酸;DGB 组:二甲基亚砷+125 μg γ -氨基丁酸+20 μg 荷包牡丹碱。下同。
Note: Values that share different letters are significantly different ($P < 0.05$). D group: DMSO+saline; DG group: DMSO + 125 μg GABA; DGB group: DMSO + 125 μg GABA + 20 μg bicuculline. The same as follows.

图 1 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱后 0.5 h 和 2 h 翘嘴鲮累计摄食量

Fig.1 The accumulated food intake in Chinese perch at 0.5 h and 2 h after ICV injection of GABA and bicuculline

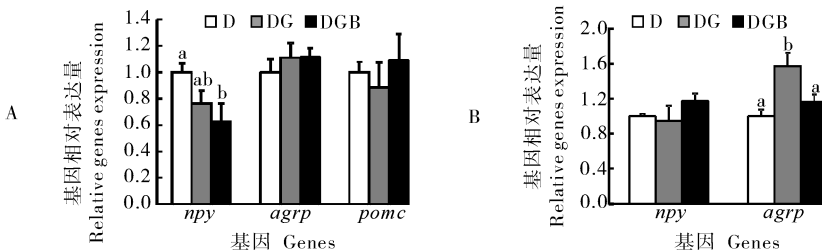


图 2 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱后 0.5 h (A) 和 2 h (B) 翘嘴鲮脑中食欲基因表达

Fig.2 The appetite genes expression in brain in Chinese perch at 0.5 h (A) and 2 h (B) after ICV injection of GABA and bicuculline

2.2 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱后对翘嘴鲮脑中相关食欲基因表达的影响

脑室注射不同剂量药品 0.5 h 后,与 D 组相比,DGB 组翘嘴鲮脑中 *npv* 的 mRNA 水平显著下调($P < 0.05$),而 *agrp* 的 mRNA 水平无显著变化($P > 0.05$),抑食欲因子 *pomc* 的 mRNA 水平也无显著性变化($P > 0.05$)。脑室注射不同剂量药品 2 h 后,DGB 组与 DG 组相比,翘嘴鲮脑中的 *agrp* 的 mRNA 水平显著下调($P < 0.05$),而 *npv* 的 mRNA 水平无显著变化($P > 0.05$)(图 2)。

2.3 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱对翘嘴鲮血糖变化的影响

脑室注射不同剂量药品后 0.5 h,与 D 组相比,DG 组翘嘴鲮血糖显著降低($P < 0.05$),而 DGB 组无显著性差异;注射 2 h 后各组间均无显著性差异($P > 0.05$)(图 3)。

2.4 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱后翘嘴鲮血清中胰高血糖素的变化

用试剂盒检测脑室注射不同剂量药品后 0.5 h 翘嘴鲮血清中的胰高血糖素的浓度,可以看出 DG 组血清中胰高血糖素的含量显著高于 D 组和 DGB 组($P < 0.05$)(图 4)。

2.5 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱后对翘嘴鲮肝脏中相关基因的影响

脑室注射不同剂量药品 0.5 h 后与 D 组相比,DG 组翘嘴鲮肝脏中 *cs* (柠檬酸合酶)、*pc* (丙酮酸羧化酶)、*pfk1* (6-磷酸果糖激酶 1) 的 mRNA 水平无显著变化($P > 0.05$);而 DGB 组相比较于 D 组和 DG 组,*cs* 的 mRNA 水平显著上升($P < 0.05$),*pfk1* 的 mRNA 水平显著下降($P < 0.05$),*pc* 的 mRNA 水平各组间均无显著性变化($P > 0.05$)(图 5)。

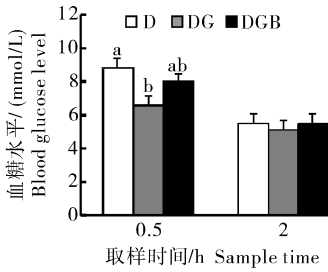


图 3 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱后 0.5 h 和 2 h 翘嘴鲻血糖水平

Fig.3 The level of blood glucose in Chinese perch at 0.5 h and 2 h after ICV injection of GABA and bicuculline

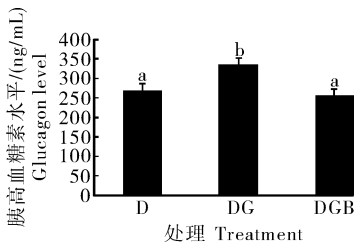


图 4 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱后 0.5 h 翘嘴鲻血清中胰高血糖素水平

Fig.4 The glucagon level in Chinese perch at 0.5 h after ICV injection of GABA and bicuculline

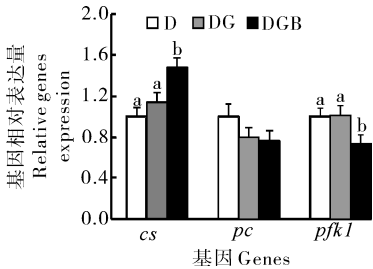


图 5 脑室注射 GABA 和荷包牡丹碱后 0.5 h 翘嘴鲻肝脏中糖代谢相关基因的表达

Fig.5 The glucose metabolism genes expression in liver of Chinese perch at 0.5 h after ICV injection of GABA and bicuculline

3 讨论

鱼类摄食是依靠中枢神经系统和外周神经系统共同调节,中枢神经系统由一些摄食相关的神经肽和神经递质组成,而外周神经系统由一些胃肠肽和激素组成^[22]。这些多肽、激素等物质通过调节食欲促进因子和食欲抑制因子的表达,综合调控摄食^[23-25]。早期研究发现,食欲调节中枢主要是分布在下丘脑,内侧下丘脑区的弓状核(ARC)、腹内侧核(VMN)、背中核(DMN)、室旁核(PVN)、视交叉上核(SCN)和外侧下丘脑(LH)相互协作,互相影响

共同调节摄食^[26]。弓状核对食欲调控起枢纽作用,有刺激食欲的神经元 NPY、AGRP 和抑制食欲的神经元 POMC 和 CART,其他神经核可以接受弓状核的神经元的突触投射,从而能使食欲信号表达。

γ -氨基丁酸(GABA)是生物体内一种重要的抑制性神经递质,在下丘脑各区中也广泛存在。有研究表明,GABA 和 NPY 可以在弓状核中共表达并且可以投射到室旁核^[27,10],推测室旁核中的 GABA 可能通过与 NPY 共同释放出来刺激食欲。在哺乳动物的研究中发现,在脑中注射一定剂量的 GABA 可以显著提高动物的摄食量,但是呈现一定的剂量依赖性^[28-29],高剂量的 GABA 对摄食有抑制作用,所以 GABA 的促摄食效果与剂量的添加有密切关系^[30]。

基于前人的研究^[15-17]和本实验室前期的研究基础,本次试验用的 GABA 剂量为 125 μg ,注射后 0.5 h 和 2 h 统计其摄食量,结果显示 DG 组和 D 组(对照组)相比无显著性差异,这与本实验室前期的研究结果^[18]不一致,这可能是鱼的规格大小不同以及本次试验注射了 DMSO 导致的差异。猜测可能 DMSO 具有毒性,同时高剂量的 GABA 也可能产生一定的毒性^[31],对鱼的摄食会产生消极影响,不同规格的鱼能承受的毒性剂量区间不一致,同时 GABA 在调控动物摄食上也存在时间和剂量的关系^[32]。GABA 主要通过与其受体结合发挥作用,其中 GABA_A 受体是最重要的一种 GABA 受体。有研究发现^[32-33],在小鼠的脑区注射 GABA_A 受体激动剂有显著的促摄食效果,再注射 GABA_A 受体拮抗剂荷包牡丹碱后,这种促摄食效果明显减弱,所以推测 GABA_A 受体主要发挥摄食调控作用。这与 DGB 组的摄食量相对于 D 组和 DG 组显著下降的结果相吻合,说明注射 GABA_A 受体拮抗剂荷包牡丹碱能和脑中的 GABA 形成竞争性抑制从而产生拮抗作用,当其受体被抑制后,GABA 不能再通过氯离子通道进行递质传导,从而导致 GABA 受体不再被有效激活行使食欲调节。同时我们在检测脑中食欲基因的 mRNA 表达水平时发现,DGB 组的促食欲基因 *npv*,在 0.5 h 相对于 D 组显著下降,这与试验鱼的摄食结果升高相一致。而 2 h 的 *agrp* 基因表达结果表明,脑室注射 GABA 能显著提高促食欲基因的表达,共注射 GABA 和荷包牡丹碱后能显著抑制翘嘴鲻的摄食量和促食欲基因的表达,从正反验证了 GABA 的促摄食效果,这与在小鼠脑区

注射 GABA 受体拮抗剂荷包牡丹碱后其摄食显著下降的结果一致^[34]。

胰高血糖素是由胰岛 α 细胞分泌,是一种可以升高血糖的激素,它在体内可以促进糖原和脂肪分解、糖异生以及抑制糖酵解^[35]。有研究表明,在高蛋白消化的早期,肉食动物胃中受到刺激分泌胰高血糖素,以对抗胰岛素诱发的低血糖^[36]。所以 DG 组血糖下降,胰高血糖素上升从而对血糖进行反馈调节使血糖达到平衡。GABA 在体内是由体内的谷氨酸脱羧酶(GAD)脱去 α 位上的羧基形成 GABA 后在 GABA 转氨酶(GABA-T)的催化作用下生成谷氨酸和琥珀酸半醛,后者经琥珀酸半醛脱氢酶(SSA-D)催化成琥珀酸进入三羧酸循环,GABA 代谢通路是三羧酸循环侧枝^[37]。由此我们检测了糖异生、糖酵解和三羧酸循环相关基因的 mRNA 水平,发现 DG 组和 D 组并无显著差异,与血糖下降的结果不一致,我们推测 GABA 对糖代谢的影响可能存在更复杂的调控模式,这还需要进一步研究。

综上发现,通过共注射 GABA 和 GABA_A 受体拮抗剂荷包牡丹碱表明 GABA_A 受体拮抗剂能够抑制 GABA 与其受体结合从而抑制翘嘴鲌的摄食。同时,GABA 可能会对翘嘴鲌体内糖代谢产生一定影响,具体机制还有待下一步研究。

参 考 文 献

- [1] STEWART F C, THOMPSON J F. γ -Aminobutyric acid a constituent of potato tubers[J]. *Science*, 1949, 110: 439-440.
- [2] CHASE T N, WALTERS J R. Pharmacologic approaches to the manipulation of GABA-mediated synaptic function in man[J]. *GABA in nervous system function*, 1976, 294(9): 497-513.
- [3] BEN-ARI Y, KRNJEVIC K, REIFFENSTEIN R J, et al. Inhibitory conductance changes and action of γ -aminobutyrate in rat hippocampus[J]. *Neuroscience*, 1981, 6(12): 2445-2463.
- [4] 付立志, 徐进宜, 吴晓明, 等. γ -氨基丁酸受体及相关药物研究进展[J]. *中国医疗前沿*, 2007, 2(8): 35-37.
- [5] WONG T, GUIN C, BOTTIGLIERI T, et al. GABA, γ -hydroxybutyric acid, and neurological disease[J]. *Annals of neurology*, 2003, 54(S6): S3-S12.
- [6] OKADA M, ONODERA K, VAN RENTERGHEM C, et al. Functional correlation of GABA A receptor α subunits expression with the properties of IPSCs in the developing thalamus [J]. *The journal of neuro science*, 2000, 20(6): 2202-2208.
- [7] TUJIOKA K, OHSUMI M, HORIE K, et al. Dietary γ -aminobutyric acid affects the brain protein synthesis rate in ovariectomized female rats[J]. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 2009, 55(1): 75-80.
- [8] HUOT S, PALFREYMAN M G. Effects of γ -vinyl GABA on food intake of rats[J]. *Biochemical pharmacology*, 1982, 17: 99-106.
- [9] GIRARD C L, SEOANE J R, MATTE J J. Studies of the role of gamma-aminobutyric acid in the hypothalamic control of feed intake in sheep[J]. *Canadian journal of physiology & pharmacology*, 1985, 63: 1297-1301.
- [10] PU S, JAIN M R, HORVATH T L, et al. Interactions between neuropeptide Y and gamma-aminobutyric acid in stimulation of feeding: a morphological and pharmacological analysis[J]. *Endocrinology*, 1999, 140: 933-940.
- [11] GRANDISON L, GUIDOTTI A. Stimulation of food intake by muscimol and beta endorphin[J]. *Neuropharmacology*, 1977, 16: 533-536.
- [12] 李庆凯, 李同洲, 李宁宁, 等. γ -氨基丁酸对泌乳母猪采食量和抗氧化能力的试验[J]. *饲料研究*, 2010(3): 49-52.
- [13] 陈秀梅. γ -氨基丁酸对建鲤生长、免疫和抗氨氮胁迫的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2015.
- [14] KUROKAWA T, UJI S, SUZUKI T. Identification of cDNA coding for a homologue to mammalian leptin from pufferfish, *Taki fugu rubripes* [J]. *Peptides*, 2005, 26(5): 745-750.
- [15] BALDWIN B A, EBENEZER I S, RIVA C D L. Effects of intracerebroventricular injection of muscimol or GABA on operant feeding in pigs[J]. *Physiology & behavior*, 1990, 48(3): 417-421.
- [16] PERSSON B. Cardiovascular effects of intracerebroventricular GABA, glycine and muscimol in the rat [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 1980, 313(3): 225-236.
- [17] TRUDEAU V L, KAH O, CHANG J P, et al. The inhibitory effects of (gamma)-aminobutyric acid (GABA) on growth hormone secretion in the goldfish are modulated by sex steroids[J]. *Journal of experimental biology*, 2000, 203(9): 1477-1485.
- [18] 黄东, 梁旭方, 袁小琛, 等. γ -氨基丁酸对鲌摄食和食欲的影响(英)[J]. *水生生物学学报*, 2017, 41(6): 1311-1317.
- [19] DE PEDRO N, ALONSO-GÓMEZ A L, GANCEDO B, et al. Role of corticotropin-releasing factor (CRF) as a food intake regulator in goldfish[J]. *Physiology & behavior*, 1993, 53(3): 517-520.
- [20] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C (T)) method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [21] HE S, LIANG X F, SUN J, et al. Insights into food preference in hybrid F1 of *Siniperca chuatsi*, (\varnothing) \times *Siniperca scherzeri*, (δ) mandarin fish through transcriptome analysis[J]. *BMC genomics*, 2013, 14(1): 1-11.
- [22] TAO Y X. The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology[J]. *Endocrine reviews*, 2010, 31: 506-

- 543.
- [23] VOLKOFF H, CANOSA L F, UNNIAPPAN S, et al. Neuropeptides and the control of food intake in fish[J]. General and comparative endocrinology, 2005, 142: 3-12.
- [24] VOLKOFF H. The role of neuropeptide Y, orexins, cocaine and amphetamine-related transcript, cholecystokinin, amylin and leptin in the regulation of feeding in fish[J]. Comparative biochemistry and physiology - part A, 2006, 144: 325-331.
- [25] YOKOBORI E, AZUMA M, NISHIGUCHI R, et al. Neuropeptide Y stimulates food intake in the Zebrafish, *Danio rerio*[J]. Journal of neuroendocrinology, 2012, 24: 766-773.
- [26] KALRA S P. Appetite and body weight regulation; is it all in the brain? [J]. Neuron, 1997, 19: 227-230.
- [27] HORVATH T L, I BECHMANN, F NAFTOLIN, et al. Heterogeneity in the neuropeptide Y-containing neurons of the rat arcuate nucleus: GABAergic and non-GABAergic subpopulations[J]. Brain research, 1997, 756(1/2): 283-286.
- [28] 韦习会, 漆兴桂, 夏冬, 等. 日粮添加 γ -氨基丁酸对育肥猪生长和饲料利用的影响[J]. 家畜生态, 2004, 25(2): 10-13.
- [29] 刘振军. γ -氨基丁酸对早期断奶仔猪生产性能和血液指标的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2006.
- [30] HIGGS S, BARBER D J. Effects of baclofen on feeding behaviour examined in the runway[J]. Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry, 2004, 35(4): 842-847.
- [31] LUKASIUK K, PITKÄNEN A. GABA (A)-mediated toxicity of hippocampal neurons *in vitro* [J]. Journal of neurochemistry, 2000, 74(6): 2445-2454.
- [32] KELLY J, ALHEID G F, NEWBERG A, et al. GABA stimulation and blockade in the hypothalamus and midbrain: effects on feeding and locomotor activity[J]. Pharmacology biochemistry and behavior, 1978, 7: 537-541.
- [33] BOWERY N G, HUDSON A L, PRICE G W. GABA A and GABA B receptor site distribution in the rat central nervous system[J]. Neuroscience, 1987, 20(2): 365-383.
- [34] RAO T L, KOKARE D M, SARKAR S, et al. GABAergic agents prevent alpha-melanocyte stimulating hormone induced anxiety and anorexia in rats [J]. Pharmacology biochemistry and behavior, 2003, 76(3): 417-423.
- [35] 曹祥华, 王文芳. 胰岛素和胰高血糖素对血糖的调节及其相互作用[J]. 生物学通报, 2014, 49(6): 15-17.
- [36] 尹伯元. 放射免疫分析在医学中的应用[M]. 北京: 原子能出版社, 1991: 36, 218.
- [37] 顾振新, 蒋振阵. 食品原料中氨基丁酸(形成机理及富集技术)[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(10): 65-69.

Effect of γ -aminobutyric acid-A receptor antagonist on food intake and glucose metabolism in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*)

XIE Shuang HE Lei LIANG Xufang HE Shan HUANG Dong

College of Fisheries/Chinese Perch Research Center, Huazhong Agricultural University/
Freshwater Aquaculture Collaborative Innovation Center of Hubei Province/
Freshwater Aquaculture, Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding,
Ministry of Agriculture, Wuhan 430070, China

Abstract In this study, effect of γ -aminobutyric acid (GABA) and GABA-A receptor antagonist on food intake and glucose metabolism in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) was investigated. Three groups including intracerebroventricular (ICV) injection of saline and DMSO (control, D), DMSO and 125 μ g GABA (DG), and DMSO, 125 μ g GABA and 20 μ g antagonist bicuculline (DGB) were conducted. Food intake was significantly decreased in the DGB group at 0.5 h and 2 h post-injection compared with the D (control) group. Furthermore, the mRNA levels of *npy* and *agrp* were decreased significantly, which was coincident with lower food intake in Chinese perch. Blood glucose content was significantly decreased at 0.5 h post-injection, but the mRNA levels of *cs*, *pc* and *pfk1* were not significant changed. The result of co-injection of GABA with bicuculline indicated that GABA acts as an orexigenic factor and further research about GABA on glucose metabolism is needed in Chinese perch.

Keywords γ -aminobutyric acid; receptor antagonist; *Siniperca chuatsi*; food intake; glucose metabolism