

朱强胜,何珊,梁旭方,等.组氨酸及组胺对翘嘴鲌摄食调控的影响[J].华中农业大学学报,2020,39(6):180-186.

DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2020.06.024

# 组氨酸及组胺对翘嘴鲌摄食调控的影响

朱强胜,何珊,梁旭方,陈珂,邹家明

华中农业大学水产学院/华中农业大学鳊鱼研究中心/

农业农村部鳊鱼育种创新基地/农业农村部淡水生物繁育重点实验室,武汉 430070

**摘要** 以翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*)为研究对象,将其分为 3 组,经脑室分别注射(ICV)磷酸盐缓冲液(对照组)、组氨酸和组胺(试验组),通过检测翘嘴鲌 24 h 内的摄食量、食欲基因和氨基酸感知信号通路的变化来揭示组氨酸及组胺对鱼类摄食调控的影响。结果显示,脑室注射组氨酸和组胺后翘嘴鲌的摄食量在 12 h 相比于对照组显著性下降,同时 *npy*、*gcn2* 和 *atf4* mRNA 的表达均显著降低( $P < 0.05$ ),而 *agr1* 和 *mtor* mRNA 的表达却无显著性变化( $P > 0.05$ )。离体水平,通过用不同浓度(1.0、2.0 和 3.0 mmol/L)的组氨酸和组胺处理鳊脑原代细胞后检测促食欲基因的表达情况,结果显示,与对照相比,1.0、2.0 和 3.0 mmol/L 的组氨酸处理显著抑制了鳊原代脑细胞 *npy* mRNA 的表达( $P < 0.05$ ),且随着浓度的升高,这种抑制作用会增强;同时,1.0 和 3.0 mmol/L 的组氨酸处理也显著抑制了鳊原代脑细胞 *agr1* mRNA 的表达( $P < 0.05$ ),但不同浓度的组胺刺激并没有引起鳊原代脑细胞 *npy* 和 *agr1* mRNA 的表达变化。此外,2.0 mmol/L 的组氨酸刺激并不会引起鳊脑原代细胞 mTOR 信号通路下游关键蛋白 p-S6 的表达变化。以上结果提示:组氨酸和组胺会抑制翘嘴鲌的食物摄入,组氨酸可能是通过激活鳊脑组胺神经元来发挥作用,而这种抑制作用可能是通过下调促食欲因子的表达来抑制翘嘴鲌的食物摄入量。

**关键词** 翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*); 组氨酸; 组胺; 原代脑细胞; 摄食调控; 人工饲料

**中图分类号** Q 959.483 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2020)06-0180-07

翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*),隶属鲈形目(Perciformes)、真鲈科(Percichthyidae),是我国特有的淡水鱼珍品。其食性奇特,终生以活鱼虾为食,在经过长期驯化后才可接受人工饲料<sup>[1]</sup>。而近年来由于饵料鱼供应困难,翘嘴鲌人工饲料的研究就显得尤为重要<sup>[2]</sup>。组氨酸已经被证实是维持水产动物机体生命活动的必需氨基酸,由于机体自身不能够合成,必须通过摄食获取<sup>[3]</sup>。对哺乳动物的研究发现,组氨酸过量或不足可显著降低动物的食物摄入量,这种抑制作用可能是通过激活组胺神经元来实现的<sup>[4]</sup>,而在鱼类中,关于组氨酸的研究主要集中在其营养需求量的确定上<sup>[5-7]</sup>,对于组氨酸影响鱼类摄食调控机制还知之甚少。此外,动物机体在感应氨基酸过程中涉及两个重要信号通路,即哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammals target of rapamycin,

mTOR)信号通路和一般氨基酸调控阻遏蛋白 2 (general amino acid control non-derepressible 2, GCN2)信号通路<sup>[8]</sup>,这两个信号通路可能参与动物的摄食调控<sup>[8-9]</sup>,也有研究进一步表明下丘脑中的 mTOR 信号与能量摄入的调节直接相关<sup>[10]</sup>。笔者在前人研究<sup>[11-12]</sup>的基础上,进一步探讨组氨酸对翘嘴鲌摄食调控的影响,以期完善必需氨基酸对翘嘴鲌摄食调控的机制研究,并为翘嘴鲌人工饲料的开发和利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

1) 试验动物。试验用翘嘴鲌(38~42 g)由华中农业大学鳊鱼研究中心提供。试验开始前先将翘嘴鲌转移到循环水养殖系统内暂养 1 周,单缸单尾,每

收稿日期:2020-01-14

基金项目:现代农业产业技术体系专项(CARS-46);华中农业大学大北农青年学者提升专项(2017DBN014);武汉市青年科技晨光计划(2017050304010318)

朱强胜,硕士研究生。研究方向:鱼类营养与生理。E-mail: 1628612768@qq.com

通信作者:何珊,博士,副教授。研究方向:鱼类功能基因组、营养基因组及鱼类摄食代谢调控。E-mail: heshan@mail.hzau.edu.cn

缸(40 cm×50 cm×40 cm)放置1尾翘嘴鳊,水温维持在(24±1)℃,保持12 h光照与12 h黑暗交替循环周期,pH 7.0~7.5,溶氧为7.5~8.5 mg/L,每天08:00和18:00用(0.35±0.05) g麦瑞加拉鲮饱食投喂。

2)主要试剂。*L*-组氨酸(晶体氨基酸)、组胺(美国Sigma公司);10 μL不锈钢微量注射器(上海高鸽公司);L-15培养液(Genom生物公司);胎牛血清(fatal bovine serum, FBS)、含0.25% EDTA的胰蛋白酶、I型胶原酶(Gibco公司);DPBS、两性霉素B、硫酸庆大霉素、青链霉素双抗(HyClone公司)。

## 1.2 分组及处理

1)活体处理。翘嘴鳊暂养结束后挑选规格均一的个体随机分成3组,每组设10个平行,每缸(40 cm×50 cm×40 cm)放置1尾翘嘴鳊。在正式试验开始前,将试验用鱼进行24 h饥饿处理。试验时用MS-222将翘嘴鳊麻醉,称质量,然后用10 μL量程的微量注射器于脑室注射药品,注射剂量的选择参照文献[12-13],对照组注射4 μL的磷酸盐缓冲液(PBS),2个试验组分别注射20 μg的组氨酸和组胺(均用PBS溶解为4 μL)。注射时轻轻将微量注射器针头从翘嘴鳊的额骨和顶骨的中部连接处插入,将药物缓慢注入到脑室内,注毕留针1 min以防药液外溢。注射完成后,将翘嘴鳊放入曝气的清水中,待其恢复活力后立即转入到试验缸内,每缸投喂20尾麦瑞加拉鲮,通过定点计数每缸内1、4、8、12、24 h剩余的饵料鱼数量,统计每个时间段翘嘴鳊摄食饵料鱼的数量,用摄食饵料鱼的质量与翘嘴鳊质量的比值来计算出单尾翘嘴鳊在注射不同组试剂1、4、8、12、24 h时的累积摄食量。计算公式如下:摄食量=(初始的食物质量-剩余的食物质量)×相关因子<sup>[14]</sup>。在脑室注射12 h后,每组随机取6尾翘嘴鳊进行麻醉,解剖取脑组织,经液氮冷冻后,保存于-80℃超低温冰箱,用于后期分子生物学指标的检测。

2)细胞处理。参照文献[15],取状态活泼的翘嘴鳊,经75%的乙醇浸泡消毒,用纱布擦除体表黏液,在超净工作台剖取鳊脑组织于DPBS中清洗,用剪刀镊子去除多余的组织,然后将脑组织放入盛有AIM液的培养皿内浸泡消毒1.5 h;吸掉培养皿中多余AIM液,用剪刀将脑组织剪成1 mm<sup>3</sup>大小的

组织块,将组织块转移到盛有胶原酶消化液的离心管中于28℃培养箱中消化2 h;加入L-15培养液轻轻吹打得到脑细胞,1 000 r/min室温离心5 min后弃上清,随后再用L-15培养液漂洗2次(1 000 r/min,室温离心5 min),最后将收集的鳊脑细胞加入原代培养液重悬后接种到细胞培养瓶,于28℃无CO<sub>2</sub>培养箱中培养,第4天更换原代培养液1次。在显微镜下观察脑细胞的生长情况。在鳊脑原代细胞分离至第三代之后,即可进行试验。本试验所采用的鳊脑细胞已经Neu-N和β-tubulin免疫荧光细胞化学技术鉴定纯度<sup>[15]</sup>。在正式试验开始前,将脑细胞扩大培养,铺板至6孔板中,每个孔盛放2.0 mL培养液。待细胞长满后使用无添加试剂的L-15培养基对细胞进行饥饿处理18 h,再添加不同浓度的组氨酸和组胺,分别为0、1.0、2.0和3.0 mmol/L 4个浓度梯度,刺激30 min后收集细胞蛋白,刺激24 h后收集细胞RNA,于-80℃超低温冰箱保存,用于后期分子生物学指标的检测。本研究所选的刺激浓度是基于前人的研究<sup>[16]</sup>。

## 1.3 相关基因的表达水平检测

利用TRIzol Reagent试剂(TaKaRa,日本)提取鳊脑组织和原代脑细胞的总RNA,再用HiScript II Q RT SuperMix for qPCR逆转录试剂盒(诺唯赞,南京)进行反转录得到cDNA。采用实时荧光定量RT-PCR方法测定鳊脑中雷帕霉素靶蛋白(Target of rapamycin, *tor*)、转录起始因子4(Activating transcription factor 4, *atf4*)、神经肽Y(neuropeptide Y, *npy*)、刺鼠相关蛋白(agouti-related protein, *agrp*)和一般氨基酸调控阻遏蛋白2(general amino acid control non-derepressible2, *gcn2*)基因的mRNA表达水平。反应体系(20 μL):10 μL SYBR Green Supermix,上下游引物分别为0.4 μL,1 μL cDNA模板,ddH<sub>2</sub>O 8.2 μL。反应程序:95℃,5 min;95℃,10 s;退火30 s(退火温度见表1),延伸30 s,共39个循环。每经过1个循环,收集1次荧光强度信号,最后选用从翘嘴鳊中筛选出来的内源性的看家基因*rpl13a*来校正模板量,使用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法计算各基因的相对表达量,每个样品重复3次。本试验所用到的荧光定量引物均采用Primer5.0软件进行设计,并由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列见表1。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物信息

引物 Primer	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	退火温度/℃ Anneal temperature
npy	F: GGAAGGATACCCGGTGA	52
	R: TCTTGACTGTGGAATCGTG	
agrp	F: GTGCTGCTCTGCTGTTGG	65
	R: AGGTGTACACAGGGGTCGC	
atf4	F: CTCCTTCTCTCTCCGAC	58
	R: ATACCCGCAAAAGCATCATC	
gcn2	F: GCAGAACAAGAGCAATGACA	58
	R: TACAAGACCACCACAGCCAC	
tor	F: GCATCAACGAGAGCACCA	55
	R: CGTTCAAAATTCATAACCG	
rpl13a	F: TATCCCCCACCCTATGACA	59
	R: ACGCCCAAGGAGAGCGAACT	

#### 1.4 Western blot 分析

吸掉 6 孔板中的培养基,用提前预冷的 DPBS 洗涤 1 次,每孔加入 50  $\mu\text{L}$  的蛋白裂解液(RIPA,碧云天生物技术有限公司),裂解液中加入 1% 的蛋白酶抑制剂(PMSF)。用细胞刮将 6 孔板中的细胞收集在 1.5 mL 的离心管中,冰上静置 20 min,每隔 5 min 上下颠倒混匀 1 次。8 000 r/min 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 20 min 后,弃沉淀,留上清液,即得鳊脑细胞蛋白样,于  $-80^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱保存备用。蛋白浓度的测定采用 BCA 试剂盒(碧云天生物技术有限公司)。蛋白变性时加入 2 $\times$  SDS 蛋白上样缓冲液,99  $^{\circ}\text{C}$  煮沸 5 min,以充分变性蛋白质,冷却后  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。配制聚丙烯酰胺凝胶(浓缩胶 10%),蛋白样上样量为 20  $\mu\text{g}$ ,蛋白样于浓缩胶中以 80 V 电压电泳 35 min,于分离胶中以 200 V 电压电泳 45 min。转膜在冰上操作,恒流 200 mA 电泳 120 min,转膜后,将膜放在含 5% 脱脂奶粉的封闭液中室温封闭 4 h 后,用 1 $\times$  TBST 洗膜 3 次,每次 5 min。一抗:内参抗体  $\beta$ -actin(博奥森,北京)的稀释比例为 1:2 000,目的抗体 p-S6(CST,美国)的稀释比例为 1:800,4  $^{\circ}\text{C}$  旋转孵育过夜后,洗膜 3 次,每次 5 min;二抗:羊抗兔(Licor,美国)的稀释比例为 1:2 000,室温旋转孵育 1 h 后,洗膜 4 次,每次 8 min。用凝胶成像系统(LiCor Odyssey,美国)对膜进行显影检测,用 Image J 软件对条带进行灰度值分析。

#### 1.5 数据处理及统计分析

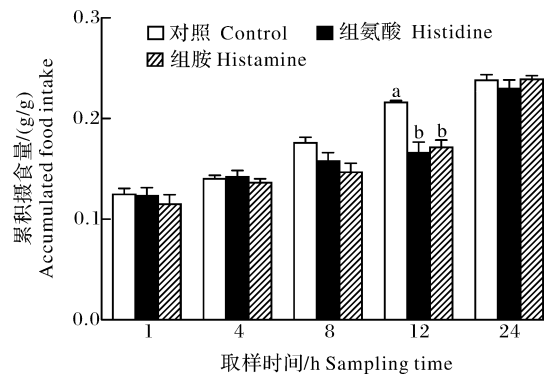
试验所有数据使用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,两组数据之间的比较采用独立样本  $t$  检验。多组数据之间采用单因素方差分析(ANOVA),差异显著后进行 Duncan's 多重比较。数据均采用

“平均值 $\pm$ 标准误”表示, $P < 0.05$  为差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 组氨酸和组胺对翘嘴鳊摄食量的影响

脑室内分别注射 20  $\mu\text{g}$  组氨酸和组胺后,翘嘴鳊的累积摄食量如图 1 所示。与对照组相比,注射组氨酸和组胺 1、4、8 h 后并没有引起翘嘴鳊的摄食量的变化( $P > 0.05$ ),但在 12 h 后注射组氨酸组和组胺组翘嘴鳊的摄食量显著降低( $P < 0.05$ ),这种抑制作用在注射 24 h 后会消失( $P > 0.05$ )。



不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。Different little letter a-b above the bars indicated significant difference ( $P < 0.05$ ).

图 1 脑室注射组氨酸或组胺后翘嘴鳊的累积摄食量

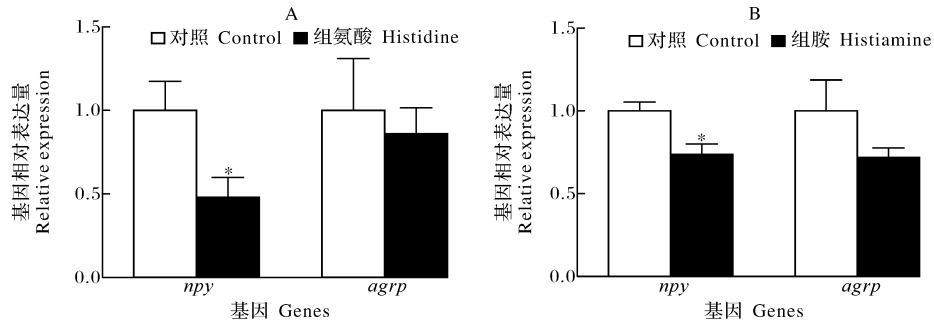
Fig.1 Food intake of Chinese perch after ICV administration with histidine or histamine

### 2.2 脑室注射组氨酸和组胺对促食欲相关基因表达的影响

脑室注射组氨酸和组胺 12 h 后,促食欲相关基因表达结果如图 2 所示。脑室注射组氨酸和组胺均可引起促食欲因子 *npy* mRNA 表达水平显著性降低( $P < 0.05$ ),同时促食欲因子 *agrp* mRNA 表达水平有下降的趋势但无显著性差异( $P > 0.05$ )。

### 2.3 不同浓度的组氨酸和组胺处理对鳊脑细胞促食欲基因表达的影响

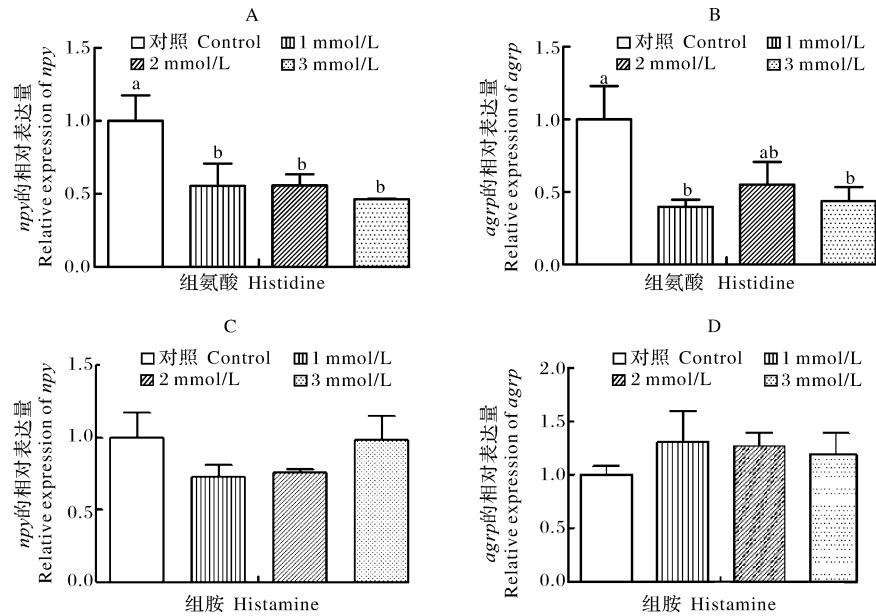
用不同浓度(0、1.0、2.0 和 3.0 mmol/L)的组氨酸和组胺分别处理鳊脑原代细胞 24 h 后,促食欲基因 *npy* 和 *agrp* mRNA 的表达情况如图 3 所示。结果发现随着组氨酸浓度的升高,*npy* mRNA 的表达量有所降低( $P < 0.05$ )(图 3A),同时 *agrp* mRNA 的表达在 1.0 和 3.0 mmol/L 组氨酸的刺激下显著性降低( $P < 0.05$ )(图 3B)。此外,不同浓度的组胺刺激鳊脑原代细胞并不会引起 *npy* 和 *agrp* mRNA 的表达变化( $P > 0.05$ )(图 3C、D)。



星号表示差异显著。表 4 同。\* indicated significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as Fig.4.

图 2 组氨酸(A)或组胺(B)脑室注射 12 h 后翘嘴鲌基因的表达

Fig.2 Gene expression at 12 h of Chinese perch after ICV administration with histidine(A) or histamine(B)



条形上方标记不同字母表明存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。Data with different letters above the bars indicated significant difference ( $P < 0.05$ ).

图 3 组氨酸(A,B)和组胺(C,D)处理鳊脑细胞后促食欲基因的表达

Fig.3 Appetite-regulatory genes expression in primary brain cells of the Chinese perch after histidine(A,B) or histamine(C,D) stimulation

## 2.4 组氨酸对翘嘴鲌 GCN2 和 mTOR 信号通路的影响

脑室注射组氨酸后鳊脑 GCN2 和 mTOR 信号通路的表达情况如图 4 所示。与对照组相比,脑室注射组氨酸可引起翘嘴鲌 GCN2 信号通路关键基因 *gcn2* 和 *atf4* mRNA 表达水平显著性降低 ( $P < 0.05$ ),但对 mTOR 信号通路关键因子 *tor* mRNA 表达水平无显著性变化 ( $P > 0.05$ )。以浓度为 2.0 mmol/L 的组氨酸处理鳊脑细胞 30 min 后,Western-blot 检测 mTOR 信号通路下游关键蛋白 p-S6 的表达情况见图 5。结果发现,与对照组相比,组氨酸处理并没有引起 p-S6 的表达变化 ( $P > 0.05$ )。

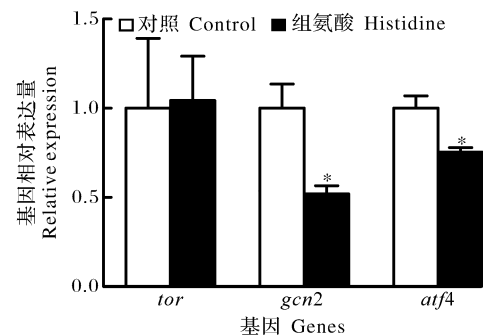


图 4 脑室注射组氨酸后鳊脑 GCN2 和 mTOR 信号通路的变化情况

Fig.4 Change of GCN2 and mTOR signaling pathways of Chinese perch after ICV administration with histidine

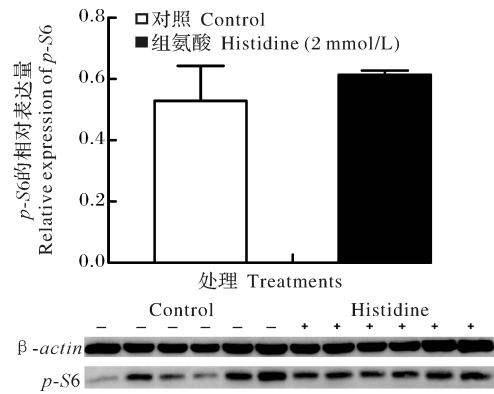


图 5 组氨酸处理鳊脑细胞后 mTOR 信号通路的变化情况  
Fig.5 Change of mTOR signaling pathway after histidine treatment in the primary brain cells of the Chinese perch

### 3 讨论

食物中的氨基酸含量不足或过量以及氨基酸失衡均会使动物食物摄入量受到抑制<sup>[17]</sup>。同时,某些氨基酸与神经递质合成之间存在着某种关系,如色氨酸、酪氨酸和组氨酸分别控制 5-羟色胺、儿茶酚胺和组胺的合成<sup>[18]</sup>。而且有研究发现,腹腔注射 5-羟色胺能抑制鱼类摄食<sup>[19]</sup>。本研究结果显示组氨酸和组胺对翘嘴鳊的摄食有显著影响。ICV 注射 20  $\mu\text{g}$  的组氨酸和组胺在 12 h 后均可显著降低翘嘴鳊的食物摄入量 ( $P < 0.05$ ),这表明一定剂量的组氨酸和组胺对翘嘴鳊具有抑制食物摄入的作用。对哺乳动物的研究也证实大脑中组氨酸和组胺的变化与食物摄入的调节有关,例如在猫脑室内注射组胺会抑制猫进食<sup>[20]</sup>;小鼠腹腔注射组氨酸可抑制食物摄入且与大脑中组氨酸和组胺含量的升高有关<sup>[4]</sup>;而腹腔内给予组氨酸后,大鼠脑中的组胺会增加<sup>[21]</sup>。也有研究发现下丘脑中存在将组氨酸转化为组胺的组氨酸脱羧酶<sup>[22]</sup>。这些结果表明,哺乳动物中组氨酸可能通过激活组胺神经元抑制食物摄入。因此,我们推测 ICV 注射组氨酸可能通过激活鳊脑组胺神经元来抑制摄食。

鱼类的摄食活动是由中枢摄食和外周饱食系统共同调节的,而这种调节作用是通过促食欲因子和抑食欲因子来调控的,为了探究组氨酸和组胺对翘嘴鳊摄食产生影响的作用机制,本研究还测定了促食欲相关基因 *npv* 和 *agrp* mRNA 的表达水平。近年来,关于 NPY 和 AGRP 在鱼类的摄食调控中发挥重要作用的研究越来越多,例如脑室注射 NPY 可增加金鱼的摄食量<sup>[23]</sup>,腹腔注射 NPY 可促进尼罗罗非鱼摄食量的增加<sup>[24]</sup>,这一研究在草鱼中也得

到相同的结果<sup>[25]</sup>。同样 AgRP 也被证明是一种与 NPY 相互配合的促进食欲的调节因子,在鱼类中能发挥促进摄食的效果<sup>[26]</sup>。本研究结果显示脑室注射组氨酸和组胺 12 h 后可显著性降低鳊脑 *npv* mRNA 的表达,该结果与在哺乳动物研究中发现组氨酸可有效降低大鼠海马区神经肽 Y 表达结果<sup>[27]</sup>基本一致。这表明组氨酸和组胺可能通过抑制促食欲 NPY 神经元的表达来抑制翘嘴鳊的食物摄入。同时,本研究还采用胰酶消化法分离鳊脑原代细胞,用不同浓度的组氨酸和组胺处理翘嘴鳊原代脑细胞,进一步在细胞水平上探究组氨酸和组胺与促食欲因子 NPY 和 AGRP 的关系。研究结果表明,组氨酸处理可下调鳊脑细胞促食欲基因 *npv* 和 *agrp* mRNA 的表达,进而验证了在活体水平上组氨酸可抑制促食欲因子 *npv* mRNA 的表达,影响翘嘴鳊的食物摄入。有证据表明,膳食中氨基酸不仅是蛋白质合成的底物,而且在控制基因表达中也起着重要的作用<sup>[28-29]</sup>。有趣的是,我们用相同浓度梯度的组胺处理鳊脑原代脑细胞,发现组胺并没有引起 *npv* 和 *agrp* mRNA 的表达变化,这可能是组胺处理的浓度和发挥作用的时间与组氨酸不同所导致的差异。

越来越多的研究证实,mTOR 和 GCN2 信号通路在动物机体感应氨基酸的过程中发挥重要作用。GCN2 信号通路主要是在动物机体缺乏氨基酸时通过增加氨基酸来源的同时减少氨基酸的去路来维持动物机体内的氨基酸处于一种相对平衡的状态<sup>[9]</sup>。而 mTOR 信号通路则是在动物机体摄入氨基酸充足条件下,主要通过增加氨基酸的消耗方式来维持机体内氨基酸的平衡<sup>[10]</sup>。本研究结果显示:ICV 注射组氨酸可抑制鳊脑 GCN2 信号通路,这与之前的研究结果不一致。氨基酸缺乏诱导激活的 GCN2 路径可激活多巴胺神经元中 ATF4,通过与  $\gamma$ -氨基丁酸受体 1 亚基(GABA(B)R1)直接互动,使得  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)信号通路抑制,同时促进多巴胺的释放,从而抑制摄食<sup>[30]</sup>。因此,我们推测,可能因为对照组注射磷酸盐缓冲溶液后使得鳊脑中氨基酸处于缺乏状态,在注射组氨酸后,这种缺乏状态得到补偿,进而抑制了鳊脑 GCN2 信号通路。有趣的是,ICV 注射组氨酸可抑制摄食,但并没有激活鳊脑 mTOR 信号通路,在细胞水平上也得到类似的结果。这与对虹鳟的研究结果不一致,在虹鳟脑室内注射亮氨酸可以激活下丘脑的 mTOR 信号通路,抑制虹鳟摄食<sup>[12]</sup>,这可能是氨基酸的种类不同所造成的差异。

综上所述,组氨酸和组胺均可抑制翘嘴鲻的食物摄入。本研究结果表明一定剂量的组氨酸和组胺可通过下调促食欲因子表达来抑制翘嘴鲻的食物摄入量。本研究结果为探索翘嘴鲻摄食调控机制提供了一定的科学依据。

## 参考文献 References

- [1] 梁旭方. 鳊鱼人工饲料的研究[J]. 水产科技情报, 2002, 29(2): 64-67. LIANG X F. The study on artificial feed of Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. Fisheries science & technology information, 2002, 29(2): 64-67 (in Chinese).
- [2] 邹杰明, 程纯明. 饲料鳊鱼是大势所趋! 鳊鱼驯化鱼苗技术尚未普及, 是制约行业发展的瓶颈[J]. 当代水产, 2019, 44(1): 34-35. ZOU J M, CHENG C M. Mandarin fish feed is the trend! The immature technology of domesticating juvenile mandarin fish is the key to restrict the development of the industry [J]. Current fisheries, 2019, 44(1): 34-35 (in Chinese).
- [3] 周凡, 邵庆均. 鱼类必需氨基酸营养研究进展[J]. 饲料与畜牧, 2010(8): 21-27. ZHOU F, SHAO Q J. Research progress on essential amino acid of nutrition in fish [J]. Feed and husbandry, 2010(8): 21-27 (in Chinese).
- [4] SHEINER J B, MORRIS P, ANDERSON G H. Food intake suppression by histidine [J]. Pharmacology biochemistry and behavior, 1985, 23(5): 721-726.
- [5] ZHAO B, FENG L, LIU Y, et al. Effects of dietary histidine levels on growth performance, body composition and intestinal enzymes activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Aquaculture nutrition, 2012, 18(2): 220-232.
- [6] KHAN M A, ABIDI S F. Optimum histidine requirement of fry African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) [J]. Aquaculture research, 2009, 40(9): 1000-1010.
- [7] AHMED B I. Dietary amino acid *L*-histidine requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), estimated by growth and whole body protein and fat composition [J]. Journal of applied ichthyology, 2013, 29(3): 602-609.
- [8] 申俊华, 朱伟云. GCN2 和 mTORC1 信号路径对动物机体氨基酸平衡的调节作用 [J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(9): 1565-1571. SHEN J H, ZHU W Y. Regulation of GCN2 and mTORC1 signaling pathways on amino acid balance in animal body [J]. Acta veterinaria et zootechnica sinica, 2017, 48(9): 1565-1571 (in Chinese with English abstract).
- [9] MAURIN A C, BENANI A, LORSIGNOL A, et al. Hypothalamic eIF2 $\alpha$  signaling regulates food intake [J]. Cell reports, 2014, 6(3): 438-444.
- [10] COTA D. Hypothalamic mTOR signaling regulates food intake [J]. Science, 2006, 312(5775): 927-930.
- [11] 王杰, 梁旭方, 李姣, 等. 菜粕替代鱼粉对翘嘴鲻肠道吸收和氨基酸代谢的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2018, 37(4): 93-101. WANG J, LIANG X F, LI J, et al. Effect of substituting fish meal with rapeseed meal on intestinal absorption and amino acids metabolism in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2018, 37(4): 93-101 (in Chinese with English abstract).
- [12] COMESANA S, VELASCO C, CEINOS R M, et al. Evidence for the presence in rainbow trout brain of amino acid sensing systems involved in the control of food intake [J]. American journal of physiology-regulatory, integrative and comparative physiology, 2018, 314(2): 201-215.
- [13] 黄康, 梁旭方, 何珊, 等. 异亮氨酸对鳊 mTOR 信号通路及氮代谢影响 [J]. 水生生物学报, 2018, 42(5): 879-886. HUANG K, LIANG X F, HE S, et al. Effect of isoleucine on mTOR signaling pathway and nitrogen metabolism of Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. Acta hydrobiologica sinica, 2018, 42(5): 879-886 (in Chinese with English abstract).
- [14] 谢爽, 何磊, 梁旭方, 等.  $\gamma$ -氨基丁酸-A 型受体拮抗剂对翘嘴鲻摄食及糖代谢的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2018, 37(5): 110-115. XIE S, HE L, LIANG X F, et al. Effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid-A receptor antagonist on food intake and glucose metabolism in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2018, 37(5): 110-115 (in Chinese with English abstract).
- [15] 石林杰, 梁旭方, 何珊, 等. 鳊脑神经元的原代培养与鉴定 [J]. 水产学报, 2020, 44(1): 43-48. SHI L J, LIANG X F, HE S, et al. Primary culture and identification of brain neurons in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. Journal of fisheries of China, 2020, 44(1): 43-48 (in Chinese with English abstract).
- [16] LANSARD M, PANSERAT S, PLAGNES-JUAN E, et al. *L*-leucine, *L*-methionine, and *L*-lysine are involved in the regulation of intermediary metabolism-related gene expression in rainbow trout hepatocytes [J]. Journal of nutrition, 2011, 141(1): 75-80.
- [17] KAMATA S, YAMAMOTO J, KAMIJO K, et al. Dietary deprivation of each essential amino acid induces differential systemic adaptive responses in mice [J]. Molecular nutrition & food research, 2014, 58(6): 1309-1321.
- [18] ANDERSON G H. Diet, neurotransmitters and brain function [J]. British medical bulletin, 1981, 37(1): 95-100.
- [19] HE Y H, LI L, LIANG X F, et al. Inhibitory neurotransmitter serotonin and excitatory neurotransmitter dopamine both decrease food intake in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. Fish physiology and biochemistry, 2017, 44(1): 175-183.
- [20] CLINESCHMIDT V, LOTTIV J. Histamine; intraventricular injection suppresses ingestive behavior of the cat [J]. Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie, 1973, 206(2): 288-298.
- [21] TAYLOR K M, SNYDER S H. Isotopic microassay of histamine, histidine, histidine decarboxylase and histamine methyltransferase in brain tissue [J]. Journal of neurochemistry, 1972, 19(5): 1343-1358.
- [22] SCHWARTZ J C, LAMPART C, ROSE C. Properties and regional distribution of histidine decarboxylase in rat brain [J]. Journal of neurochemistry, 1970, 17(11): 1527-1534.
- [23] LOPEZ-PATIO M A, GUIJARRO A I, ISORNA E, et al. Neu-

- ropeptide Y has a stimulatory action on feeding behavior in goldfish (*Carassius auratus*) [J]. *European journal of pharmacology*, 1999, 377(2/3): 147-153.
- [24] KIRIS G A, KUMLU M, DIKEL S. Stimulatory effects of neuropeptide Y on food intake and growth of *Oreochromis niloticus* [J]. *Aquaculture*, 2007, 264(1/2/3/4): 380-389.
- [25] ZHOU Y, LIANG X F, YUAN X, et al. Neuropeptide Y stimulates food intake and regulates metabolism in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Aquaculture*, 2013, 380/383: 52-61.
- [26] DELGADO M J, CERDA-REVERTER J M, SOENGAS L. Hypothalamic integration of metabolic, endocrine, and circadian signals in fish: involvement in the control of food intake [J/OL]. *Frontiers in neuroscience*, 2017, 11: 354 [2020-01-14]. <https://doi.org/10.3389/fn.ins.2017.00354>.
- [27] 翟煜, 霍小林, 王永利. 左旋组氨酸对匹罗卡品致痛大鼠海马区神经肽 Y 表达和神经细胞凋亡影响的实验研究 [J]. *河北医学*, 2016, 22(1): 1-4. ZHAI Y, HUO X L, WANG Y L. Experimental study of influences of L-histidine in Y neuropeptide expression on the hippocampus and neuronal apoptosis of pilocarpine-induced seizures rats [J]. *Hebei medicine*, 2016, 22(1): 1-4 (in Chinese with English abstract).
- [28] KIMBALL S R, JEFFERSON L S. Amino acids as regulators of gene expression [J]. *Nutrition and metabolism*, 2004, 1(1): 1-3.
- [29] LANSARD M, STEPHANE P, PLAGNES-JUAN E, et al. Integration of insulin and amino acid signals that regulate hepatic metabolism-related gene expression in rainbow trout: role of TOR [J]. *Aminoacids*, 2010, 39(3): 801-810.
- [30] BJORDAL M, ARQUIER N, KNIAZEFF J, et al. Sensing of amino acids in a dopaminergic circuitry promotes rejection of an incomplete diet in drosophila [J]. *Cell*, 2014, 156(3): 510-521.

## Effect of histidine and histamine on feeding regulation of Chinese perch (*Siniperca chuatsi*)

ZHU Qiangsheng, HE Shan, LIANG Xufang, CHEN Ke, ZOU Jiaming

*College of Fisheries/Chinese Perch Research Center, Huazhong Agricultural University/  
Innovation Base for Chinese Perch Breeding/ Key Lab of Freshwater Animal Breeding,  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430070, China*

**Abstract** In the present study, the effects of histidine and histamine on food intake were evaluated through intraventricular (ICV) administration in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*), and the primary cells of Chinese perch were stimulated with different concentrations of histidine and histamine. The food intake changes were examined within 24 h after ICV, and the changes of the appetite genes and amino acid sensing signaling pathways were detected. The results showed that histidine and histamine significantly decreased food intake at 12 h post-injection, compared with the control group. Meanwhile, the mRNA expression of *npv*, *gcn2* and *atf4* were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), whereas the mRNA expression of *agrp* and *mtor* were not significantly changed ( $P > 0.05$ ). At the cellular level, compared with the control group, 1.0, 2.0 and 3.0 mmol/L of histidine obviously inhibited the expression of the *npv* mRNA ( $P < 0.05$ ), and this inhibitory effect increased with increasing concentration. At the same time, 1.0 and 3.0 mmol/L of histidine also significantly inhibited the expression of the *agrp* mRNA ( $P < 0.05$ ). In addition, different concentrations of histamine did not cause changes the *npv* and *agrp* mRNA expression ( $P > 0.05$ ). Besides, 2.0 mmol/L of histidine didn't significantly change the phosphorylation level of protein S6, the downstream signaling of mTOR pathway. Our results suggest that histidine and histamine can inhibit the food intake of Chinese perch. Histidine suppresses food intake through its conversion into neuronal histamine, and the inhibitory effect of histidine and histamine on food intake might be mediated through down-regulating the expression of appetite-promoting genes.

**Keywords** *Siniperca chuatsi*; histidine; histamine; primary cells; feeding regulation; artificial feed

(责任编辑:边书京)