



## 脑室注射葡萄糖对翘嘴鲌摄食和糖代谢的影响

曾妍芝<sup>1,2</sup>, 李红燕<sup>1,2,3\*</sup>, 王广军<sup>1,2,3</sup>, 谢 骏<sup>1,2,3</sup>, 田晶晶<sup>1,2,3</sup>, 龚望宝<sup>1,2,3</sup>,  
夏 耘<sup>1,2,3</sup>, 张 凯<sup>1,2,3</sup>, 李志斐<sup>1,2,3</sup>, 郁二蒙<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所,

农业农村部亚热带热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东 广州 510380;

3. 中国水产科学研究院海南创新研究院, 海南 三亚 572000)

**摘要:** 为探究鳃下丘脑葡萄糖感知系统的存在和对摄食的影响, 实验以翘嘴鲌为研究对象, 对鳃分别进行脑室注射生理盐水(对照组)、2-DG(葡萄糖代谢拮抗剂, 100 mg/kg)和葡萄糖(10 mg/kg), 探究注射后3、6和12 h不同时间点鳃摄食及糖代谢的响应机制。结果显示, 脑室注射葡萄糖显著抑制鳃的摄食, 而不同时间点鳃血浆葡萄糖含量无显著差异。脑室注射葡萄糖显著诱导下丘脑葡萄糖激酶基因 *gk* (glucokinase, 6 h), 表明鳃下丘脑葡萄糖感知体系的存在。且脑室注射葡萄糖显著促进可卡因和苯丙胺调节转录肽基因 *cart* (cocaine and amphetamine regulated transcript, 3 h) 的表达量, 这可能与鳃 *mTOR* (mammalian target of rapamycin) 在下丘脑(12 h)和肝脏(6 h)中的基因表达水平的显著上调有关。另外, 脑室注射葡萄糖显著诱导鳃肝脏 *gk* (6 h) 和 *pk* (pyruvate kinase, 3 h) 的表达, 促进糖酵解, 表明脑室通过感知的葡萄糖水平促进分解代谢为机体供能。综上, 本研究首次通过脑室注射葡萄糖探究鳃下丘脑葡萄糖感知系统的存在, 同时发现鳃下丘脑对葡萄糖脑室注射存在响应。且脑室注射葡萄糖可能通过对 *gk* 的调控影响 AMPK/mTOR 通路, 调控机体食欲相关基因表达进而抑制摄食。研究结果为翘嘴鲌对饲料碳水化合物的高效利用和摄食调控研究提供理论依据。

**关键词:** 翘嘴鲌; 葡萄糖感知; 脑室注射; 摄食调控; 糖代谢

中图分类号: S 963.1

文献标志码: A

碳水化合物(糖)是动物重要的营养素来源, 可以分解产生能量为机体生命活动供能, 其代谢中间产物可转化为其他含碳化合物, 进而合成氨基酸、脂肪等营养物质<sup>[1]</sup>。碳水化合物来源丰富、价格低廉, 具有节约饲料蛋白质和成本、保护渔业资源和减少养殖过程中氮排泄对水环境的污染等重要作用, 因而被广泛应用于水产饲料中<sup>[1-2]</sup>。

然而, 鱼类对饲料碳水化合物的利用能力较差, 且不同食性的鱼类对饲料糖的耐受性不同<sup>[3]</sup>。相较杂食性和草食性鱼类, 肉食性鱼类对饲料糖高度不耐受<sup>[4]</sup>, 表现为肉食性鱼类如翘嘴鲌 (*Siniperca chuatsi*)<sup>[5]</sup>、大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*)<sup>[6]</sup> 和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[7]</sup> 等在摄食高糖饲料后出现持续的餐后高血糖症。另外, 高糖

收稿日期: 2023-03-29 修回日期: 2023-06-25

资助项目: 广东省基础与应用基础研究基金(2023A1515010008); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2022SJI-XK1); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-45-21)

第一作者: 曾妍芝(照片), 从事水产健康养殖与水产营养研究, E-mail: zengyanzhi@prfri.ac.cn

通信作者: 李红燕, 从事水产健康养殖与水产营养研究, E-mail: lihongyan@prfri.ac.cn;

郁二蒙, 从事水产健康养殖与水产营养研究, E-mail: yem@prfri.ac.cn



饲料养殖抑制水产动物生长, 导致机体肝脏糖代谢紊乱和脂肪蓄积等负面效应<sup>[8]</sup>。

高糖饲料抑制鱼类摄食的现象在多种鱼类中均有报道, 且在肉食性鱼类鳊中表现尤为明显。鳊隶属于鲈形目(Perciformes), 是我国特有的本土淡水名贵鱼类。据统计, 2021年全国鳊养殖年产量37.39万t, 其中广东省鳊产量14.23万t, 为全国第一<sup>[9]</sup>。鳊食性独特, 自开口起以鲜活饵料为食, 难摄食死饵和人工饲料。有关鳊驯化摄食人工饲料的研究自20世纪90年代开始开展, 目前已实现通过驯化使其摄食人工饲料<sup>[10]</sup>。人工饲料养殖鳊的推广有助于减少饵料鱼饲养带来的环境污染, 降低养殖成本, 提高质量安全。然而, 作为典型的凶猛肉食性鱼类, 鳊对饲料糖高度不耐受, 由高糖饲料引起的摄食减退甚至厌食现象尤为显著, 严重阻碍了鳊的生长和规模化养殖的推广<sup>[11-12]</sup>。鳊人工配合饲料养殖是当前鳊养殖产业发展的重点方向, 因此解决高糖饲料诱导的厌食反应和糖利用问题是鳊产业发展亟需解决的瓶颈。

当前研究表明, 鱼类的摄食行为和食欲调控是由复杂的中枢神经系统、外周器官分泌的激素及非激素信号共同组成的<sup>[13]</sup>。下丘脑是鱼类食欲和摄食行为的主要调控中心, 可以感知并整合多种营养物质信号、激素和节律性信号, 进而调节食欲及摄食行为<sup>[13-14]</sup>。越来越多的研究表明, 鱼类存在对葡萄糖、脂肪酸和氨基酸等营养物质的感知机制<sup>[15-16]</sup>。中枢神经系统可以直接通过感知营养物质水平调控促食欲或抑食欲神经肽的表达调控摄食, 并引起肝脏代谢及激素分泌的变化, 进而影响鱼类的代谢<sup>[17]</sup>。因此, 探究鱼类中枢神经系统对葡萄糖的感知机制是研究高糖影响其摄食的重要前提条件。

下丘脑 AMPK (AMP-activated protein kinase) 和 mTOR (mammalian target of rapamycin) 是连接机体营养物质水平感知和发挥中枢神经系统摄食调控作用的重要桥梁<sup>[18]</sup>。下丘脑葡萄糖激酶 GK 可以通过 AMPK 信号通路发挥对摄食食欲的调控作用<sup>[19]</sup>。研究表明, 禁食或低血糖机体下丘脑 AMPK 被激活, 进而促进促食欲神经肽 NPY (neuropeptide Y) / AgRP (agouti gene-related protein), 并通过抑制抑食欲神经肽 POMC (Pro-opiomelanocortin) / CART (cocaine and amphetamine regulated transcript) 的表达来促进摄食<sup>[20]</sup>。脑室注射 (intracerebroventricular, ICV) 是探究鱼类下丘脑感应系统和食欲调节作用的重要手段。研究表明,

对鳊脑室注射辛酸后 4 h, 下丘脑 *agrp* 的 mRNA 水平降低, 摄食量显著减少<sup>[21]</sup>。脑室注射不同氨基酸, 通过对 TOR 信号通路调控作用的不同而影响鳊的摄食, 表明鳊下丘脑氨基酸感知机制的存在<sup>[22-23]</sup>。哺乳动物中, 大鼠 (*Rattus norvegicus*) 脑室注射葡萄糖显著抑制其摄食量<sup>[24]</sup>。另外, 脑室注射葡萄糖增加小鼠 (*Mus musculus*) 下丘脑 *pomc* 和 *cart*, 降低 *npv* 和 *agrp* 的基因表达水平进而抑制摄食<sup>[25]</sup>。然而, 鳊是否存在脑室葡萄糖感知系统及其如何调控 AMPK 和 mTOR 信号通路影响摄食和糖代谢的机制尚不明确。

综上, 本研究以翘嘴鳊为对象, 通过脑室注射葡萄糖和 2-DG (葡萄糖代谢拮抗剂, 2-deoxy-D-glucose), 探究对鳊摄食和糖代谢的影响, 验证下丘脑是否存在葡萄糖感知系统, 并阐述 AMPK/mTOR 信号通路在食欲调控中的作用机制。研究结果将阐述鳊下丘脑葡萄糖感知系统的存在及高糖对鳊的摄食调控和糖代谢影响及机制, 为鳊对饲料糖的高效利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验鱼及暂养管理

实验所用翘嘴鳊和饵料鱼均来自广东省佛山市某鳊养殖场, 实验在中国水产科学研究院珠江水产研究所养殖基地进行。实验开始前, 将实验鱼放置于水泥池 (4.5 m×4.5 m×1.1 m) 中暂养 2 周, 每天表观饱食投喂饵料鱼 2 次 (09:00 和 17:00), 直至适应实验环境条件。正式实验在室内循环水系统玻璃缸 (1.2 m×0.6 m×0.5 m) 中进行。实验期间检测水体水质指标, 其中 pH 为 6.5~7.8, 溶解氧含量 (DO) 5.7~7.6 mg/L, 氨氮浓度 ≤ 0.20 mg/L, 水温为 28.0~33.0 °C。本研究获得了中国水产科学研究院珠江水产研究所实验动物管理和使用伦理委员会批准 (LAEC-PRFRI-2022-08-58), 实验过程中操作人员严格遵守中国水产科学研究院珠江水产研究所实验动物管理和使用伦理委员会伦理规范, 并按照中国水产科学研究院珠江水产研究所伦理委员会制定的规章制度执行。

### 1.2 脑室注射实验及摄食量统计

正式实验开始前将所有实验鱼禁食 24 h, 挑选体表无伤、大小均一的翘嘴鳊 [(209.00±6.71) g], 使用麻醉剂 (MS-222, 60 mg/L, Sigma, E10521) 麻醉后进行称重。分别对鳊进行脑室注射生理盐水、高浓度葡萄糖 (10 mg/kg, 沪试, 63005518) 和 2-

DG (100 mg/kg, MedChemExpress, HY-13966), 每组设置 3 个重复, 每个重复 10 尾实验鱼。脑室注射实验采用 25  $\mu$ L 量程微量注射器 (1705N, Hamilton, 罗马尼亚) 进行, 注射位置为鳃眼眶后 5 mm 位置处, 深度约 5 mm。注射完毕后使用凡士林涂抹以避免感染, 然后将鳃放入室内循环水系统玻璃缸中。脑室注射完成后, 每个玻璃缸放入相同数量且体重均衡的饵料鱼 [(14.60 $\pm$ 0.38) g], 分别于注射后 3、6 和 12 h 记录每缸剩余饵料鱼的数量, 以统计不同处理组的饵料鱼摄食量。

### 1.3 样品采集

脑室注射实验后, 分别于 3、6 和 12 h 进行解剖取样。将实验鱼用麻醉剂 (MS-222, 60 mg/L, Sigma, GYT0202813) 麻醉后, 每缸随机选取 3 尾, 采用肝素钠抗凝剂 (0.02%, Aladdin, H123383) 润洗过的无菌注射器从尾静脉取血, 于无菌离心管中 4 000 r/min 离心 10 min 后获取上清液, 保存在  $-80^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱。冰浴无菌条件下解剖肝脏和下丘脑组织, 放入液氮速冻并于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱冷

冻保存, 用于后续实验分析。

### 1.4 血浆葡萄糖含量测定

血浆葡萄糖含量测定原理为葡萄糖氧化酶法, 具体操作步骤依据试剂盒 (A154-1-1, 南京建成生物工程研究所) 使用说明书进行。

### 1.5 总 RNA 提取及实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 分析

使用 TRIzol 法分别提取翘嘴鲌下丘脑和肝脏组织的总 RNA, 通过琼脂糖凝胶电泳确认 RNA 的纯度、完整性后于分光光度计下测定其浓度, 并采用逆转录试剂盒合成 cDNA。qRT-PCR 在 Light Cycler<sup>®</sup>96-Time PCR Detection System (Roche, 瑞士) 仪器上进行。选取  $\beta$ -actin 作为内参基因, 基因相对表达水平的计算根据 Pfaffl<sup>[26]</sup> 的方法来计算。实验用基因引物序列如表 1 所示。

### 1.6 数据分析

本实验所有数据采用 SPSS 22.0 软件进行统

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Tab. 1 Primer sequences used for qRT-PCR

| 基因<br>genes                 | 引物序列<br>primer sequences                             | 登录号<br>accession number | 扩增效率<br>efficiency |
|-----------------------------|--|-------------------------|--------------------|
| $\beta$ 肌动蛋白 $\beta$ -actin | F: TGCGTGACATCAAGGAGAAGC<br>R: GAGGAAGGAAGGCTGGAAGAG | XM_044169301.1          | 1.96               |
| 胰岛素受体a insra                | F: TACACGACCGTCAACTCCT<br>R: GTTTTCAGACCCATACATACCT  | XM_044221017.1          | 1.85               |
| 胰岛素受体b insrb                | F: AGAAGTTGAACCAGGACC<br>R: CCGACACACAGTTTAGGA       | XM_044200278.1          | 1.90               |
| 葡萄糖激酶 gk                    | F: AAGGTGGAGACCAAGAAC<br>R: TGCCCTGTCAATGTCC         | XM_044196406.1          | 1.96               |
| 6-磷酸果糖激酶 pfk                | F: GCTACCATCAGCAACAACG<br>R: GCCACAGAATCCACCCAT      | XM_044218098.1          | 1.93               |
| 丙酮酸激酶 pk                    | F: CGCCCTCGCTGTCTATTA<br>R: TGCCGAAGTTGACCCTGTGTG    | XM_044207998.1          | 2.03               |
| 葡萄糖转运蛋白2 glut2              | F: GCTGTGTCTTTTTGGGTT<br>R: GTCCCTGTGGAAGACAGCA      | XM_044167564.1          | 1.98               |
| 腺苷酸活化蛋白激酶 AMPK              | F: GGGATGCAAACCAAGATG<br>R: ACAGACCCAGAGCGGAGA       | XM_044175461.1          | 1.87               |
| 哺乳动物雷帕霉素靶分子 mTOR            | F: GCATCAACGAGAGCACCA<br>R: CGCTTCAAAATTCATAACCG     | XM_044211707.1          | 1.85               |
| 神经肽Y npy                    | F: GTTGAAGGAAAGCACAGACA<br>R: GCTCATAGAGGTAAAAGGGG   | XM_044172804.1          | 2.09               |
| 神经肽鼠相关蛋白 agrp2              | F: GAGCCAAGCGAAGACCAGA<br>R: GCAGCACGGCAAATGAGAG     | MK770670                | 1.86               |
| 阿片促黑素细胞皮质激素原 pomca          | F: CTGTCAGGAGCTCAACTCTG<br>R: AGGAAGGGAGGATGAAGGAG   | MN818827                | 1.95               |
| 可卡因和苯丙胺调节转录肽 cart           | F: CGAACCTAACAGTGAGAAG<br>R: GGGACAGTCGCACATCTT      | MN818823                | 1.90               |

计分析, 实验结果采用平均值 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SE,  $n=6$ ) 表示。分析方式为单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 各实验组间存在显著差异时, 采用 Duncan 氏进行多重比较, 以  $P<0.05$  表示统计学差异显著。

## 2 结果

### 2.1 摄食量和血浆葡萄糖含量

鳊脑室注射葡萄糖和 2-DG 后摄食量和不同时间点血浆葡萄糖含量如图 1 所示。与对照组相比, 脑室注射葡萄糖显著降低鳊摄食量 ( $P<0.05$ ), 而脑室注射 2-DG 对鳊摄食量无显著影响 ( $P>0.05$ )。脑室注射后 3、6 和 12 h, 所有处理组间血浆葡萄糖含量均无显著差异 ( $P>0.05$ )。

### 2.2 下丘脑基因表达

**糖代谢相关基因** 鳊脑室注射葡萄糖和 2-DG 后不同时间点下丘脑糖代谢相关基因表达如图 2 所示。研究结果显示, 鳊脑室注射葡萄糖显著促进下丘脑 *gk* (6 h) 和 *pk* (3 h) 的基因表达量 ( $P<0.05$ ), 而 *insra* 和 *insrb* 在鳊脑室注射高糖 6 h 表达量显著下调。脑室注射 2-DG 显著抑制鳊下丘脑 *insra* (3 h) 的基因表达量 ( $P<0.05$ )。脑室注射葡萄糖或 2-DG 后 12 h 各处理组间糖代谢相关基因表达均无显著性差异 ( $P>0.05$ )。

**调控因子** 鳊脑室注射葡萄糖和 2-DG 后不同时间点下丘脑 *AMPK* 和 *mTOR* 表达量如图 3

所示。研究结果显示, 与对照组相比, 脑室注射葡萄糖提高鳊下丘脑 *mTOR* (12 h) 的基因表达量, 而脑室注射 2-DG 显著提高鳊下丘脑 *AMPK* (12 h) 的基因表达量 ( $P<0.05$ )。在其他时间点, 脑室注射葡萄糖或 2-DG 对鳊下丘脑 *AMPK* 和 *mTOR* 基因表达均无显著影响 ( $P>0.05$ )。

**食欲基因** 脑室注射葡萄糖和 2-DG 后不同时间点鳊下丘脑食欲基因表达如图 4 所示。研究结果显示, 脑室注射葡萄糖显著提高鳊下丘脑抑制食欲基因 *cart* (3 h) ( $P<0.05$ )。然而, 脑室注射 2-DG 不同时间点鳊下丘脑食欲基因表达量均无显著差异 ( $P>0.05$ )。

### 2.3 肝脏基因表达

**糖代谢相关基因** 脑室注射葡萄糖和 2-DG 后不同时间点鳊肝脏糖代谢相关基因表达如图 5 所示。研究结果显示, 鳊脑室注射葡萄糖显著提高肝脏 *pk* (3 h)、*insra* (6 h) 和 *glut2* (3 h) 的基因表达量 ( $P<0.05$ )。除脑室注射 2-DG 鳊肝脏 *gk* (6 h) 和 *glut2* (12 h) 表达量显著增加外, 其他时间点鳊肝脏糖代谢相关基因表达量均无显著差异。

**调控因子** 脑室注射葡萄糖和 2-DG 后不同时间点鳊肝脏 *AMPK* 和 *mTOR* 的相对表达量如图 6 所示。研究结果显示, 脑室注射葡萄糖显著上调鳊肝脏 *AMPK* (3 h) 和 *mTOR* (6 h) 的基因表达量 ( $P<0.05$ )。脑室注射 2-DG 显著提高 *AMPK* 在 3 h 和 6 h 的基因表达量, 而对不同时间点肝脏 *mTOR* 的基因表达量均无显著影响 ( $P>0.05$ )。

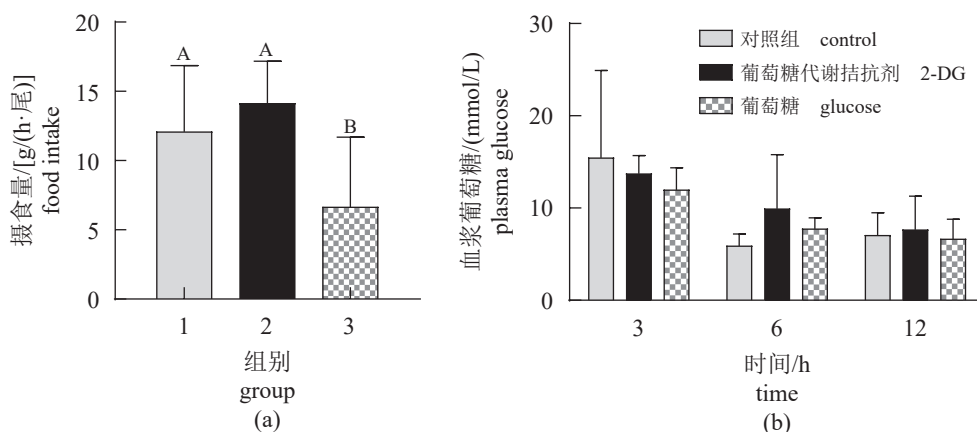


图 1 脑室注射葡萄糖和 2-DG 下鳊摄食和不同时间点血浆葡萄糖水平

1. 对照组, 2. 葡萄糖代谢拮抗剂, 3. 葡萄糖组; 不同大写字母表示不同实验组间统计学差异显著 ( $P<0.05$ )。

Fig. 1 Food intake and plasma glucose levels in *S. chuatsi* after ICV administration of glucose and 2-DG at different times

1. control, 2. 2-DG, 3. glucose; different capital letters indicate significant statistical differences between different groups ( $P<0.05$ ).

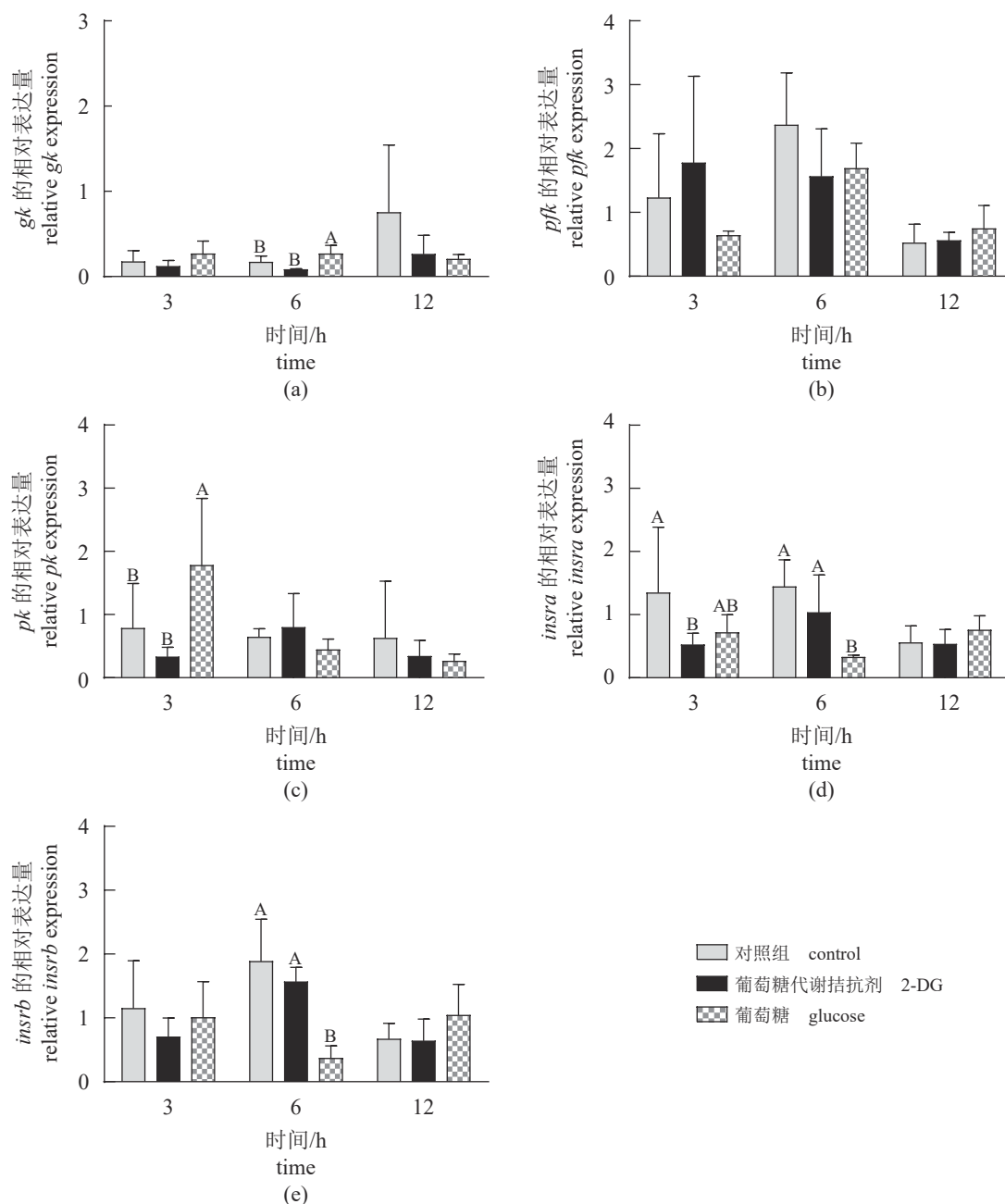


图2 脑室注射葡萄糖和 2-DG 不同时间点鳅下丘脑糖代谢相关基因相对表达量

不同大写字母表示同一时间点不同实验组间统计学差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

**Fig. 2** Relative expression of genes involved in glucose metabolism in the hypothalamus of *S. chuatsi* after ICV administration of glucose and 2-DG at different times

Different capital letters indicate significant statistical differences between different groups at the same time ( $P < 0.05$ ), the same below.

### 3 讨论

碳水化合物是参与动物机体代谢的重要营养物质, 而食物中碳水化合物的含量在一定程度上影响动物的摄食。高糖抑制动物摄食的现象在多种动物中均有所报道, 例如哺乳动物摄食富含碳水化合物的食物会抑制餐后的食欲<sup>[27]</sup>。大鼠摄入

高糖食物后 2 h 内食欲受到抑制<sup>[28]</sup>。其他动物如狗 (*Canis lupus familiaris*) 在摄入高糖后摄食量也有所下降<sup>[29]</sup>。在水产动物中, 相比无糖饲料, 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 摄入高糖饲料摄食量显著降低<sup>[30]</sup>。鳅作为肉食性鱼类, 摄食含有 8% 碳水化合物水平的人工饲料时摄食量减半, 甚至出

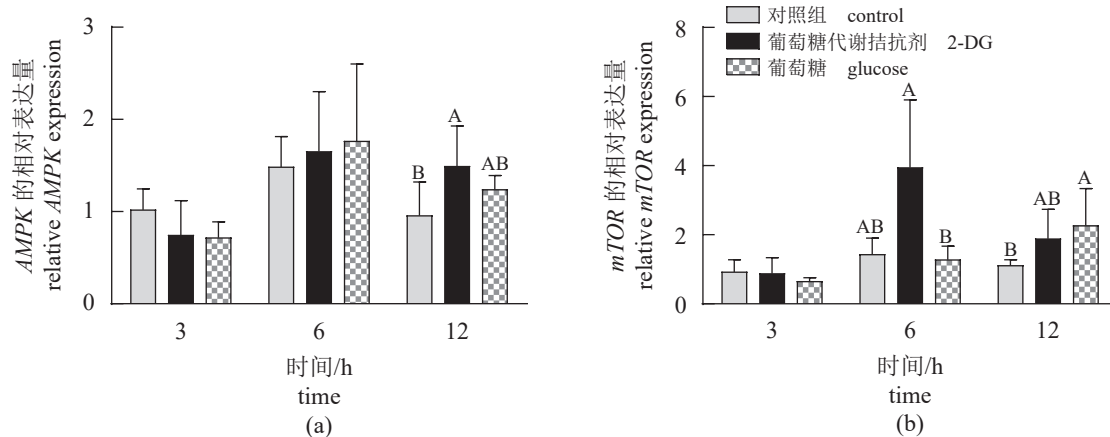


图3 脑室注射葡萄糖和 2-DG 不同时间点鳊下丘脑 AMPK 和 mTOR 的相对表达量

Fig. 3 Relative expression of AMPK and mTOR in the hypothalamus of *S. chuatsi* after ICV administration of glucose and 2-DG at different times

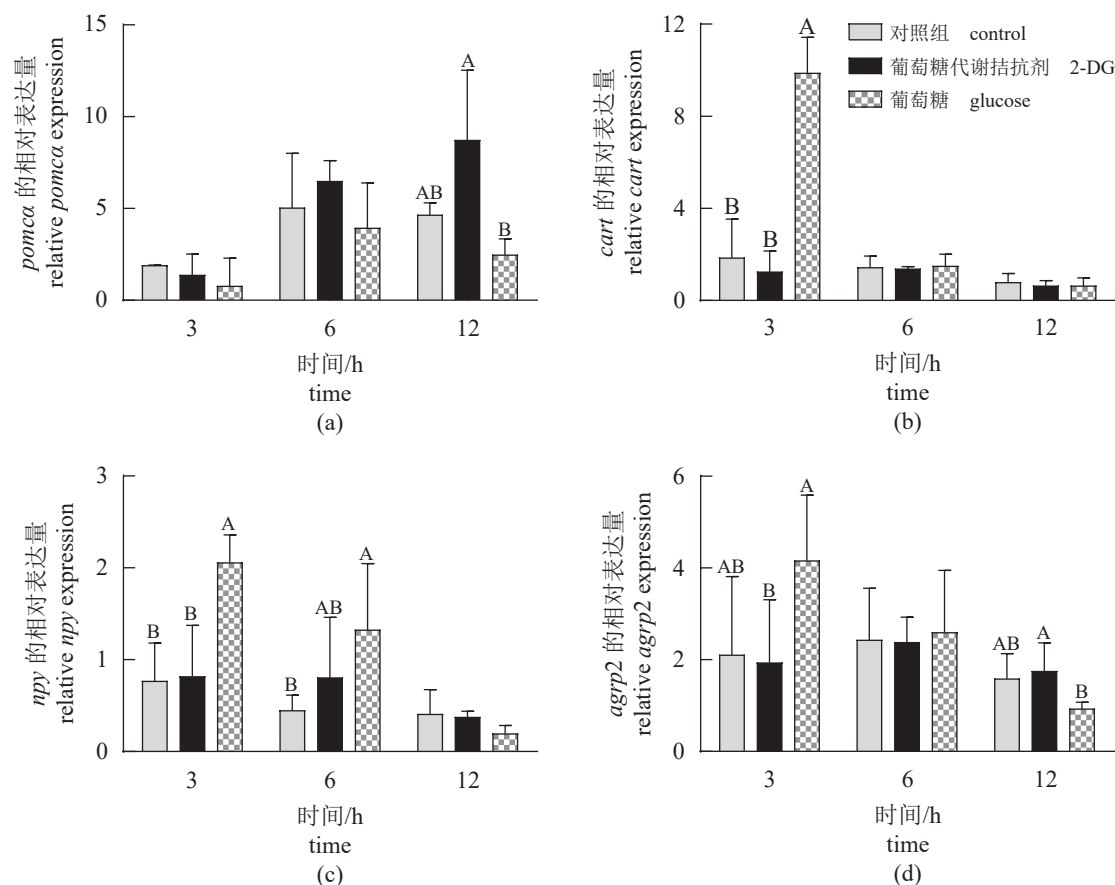


图4 脑室注射葡萄糖和 2-DG 不同时间点鳊下丘脑食欲基因的相对表达量

Fig. 4 Relative expression of appetite genes in the hypothalamus of *S. chuatsi* after ICV administration of glucose and 2-DG at different times

现不摄食的现象<sup>[31]</sup>。另外, 研究表明脑室注射葡萄糖可以显著抑制鼠的摄食<sup>[24-25]</sup>。本研究中, 对翘嘴鳊进行脑室注射高浓度葡萄糖, 12 h 内其摄食量显著降低, 表明脑室注射高糖抑制翘嘴鳊的

摄食, 这与鼠的研究结果表现出一致性。另外, 鱼类摄食高糖饲料对血浆葡萄糖水平具有显著影响, 如虹鳟<sup>[32]</sup>、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[33]</sup>和长吻鮠(*Leiocassis longirostris*)<sup>[33]</sup>。腹腔注射葡萄糖

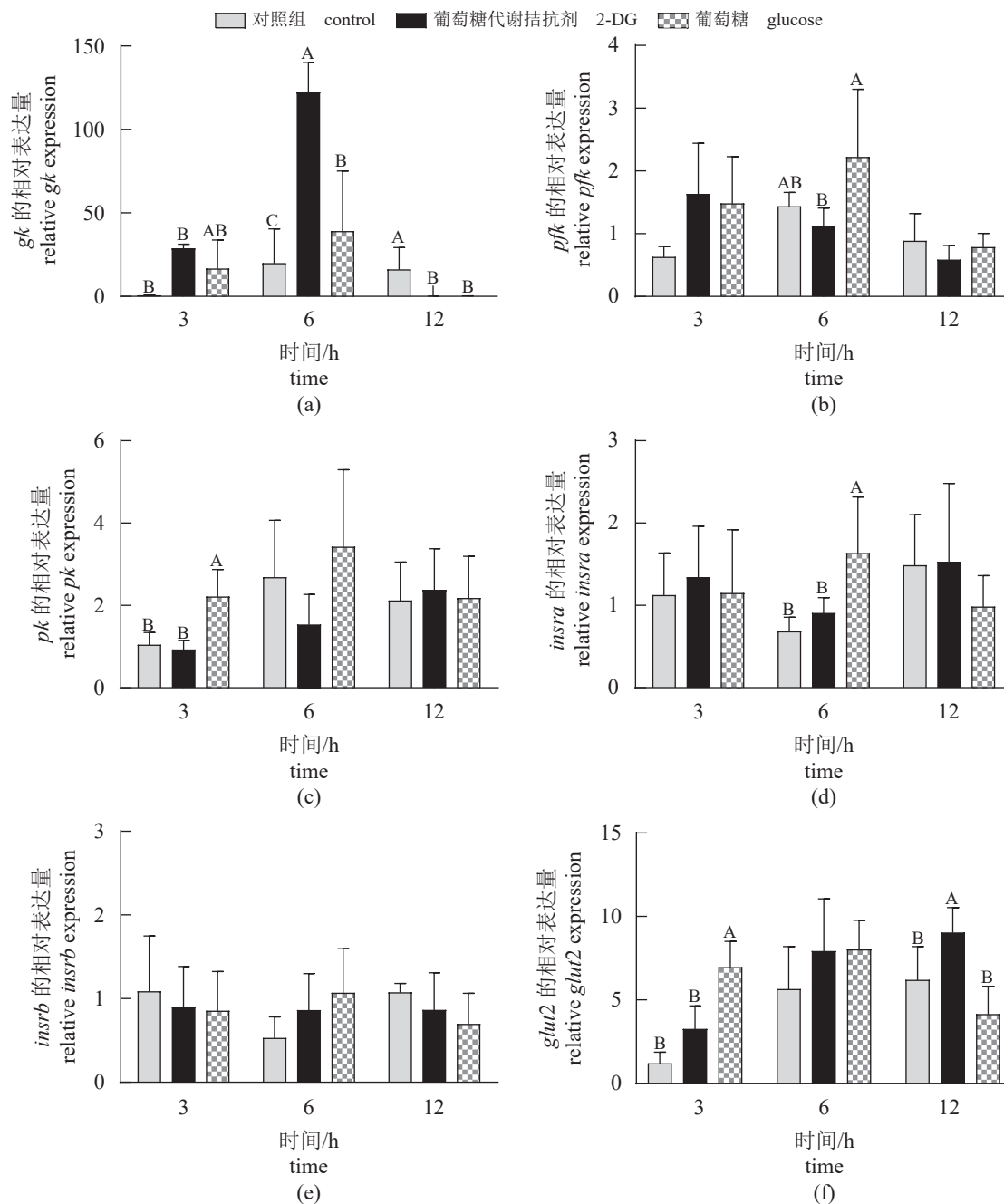


图 5 脑室注射葡萄糖和 2-DG 不同时间点鳊肝脏糖代谢相关基因相对表达量

Fig. 5 Relative expression of glycolysis genes in the liver of *S. chuatsi* after ICV administration of glucose and 2-DG at different times

糖显著提高团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)<sup>[34]</sup> 和尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)<sup>[35]</sup> 血浆葡萄糖水平。然而在本实验中, 脑室注射葡萄糖不同时间点鳊的血浆葡萄糖水平无显著差异, 这可能是由于注射方式差异导致的。由此可见, 脑室注射葡萄糖显著抑制翘嘴鳊的摄食, 但其作用机制仍需进一步探究。

鱼类的葡萄糖感知系统主要由葡萄糖激酶

(glucokinase, GK)、葡萄糖促进转运蛋白 2 (glucose transporter 2, *glut2*) 和 ATP 依赖的内向整流钾通道 ( $K^+_{ATP}$ ) 的典型机制驱动。GK 是机体葡萄糖感知系统的重要感受器。葡萄糖经 GLUT2, 被 GK 感知后进入糖酵解途径, 增加胞内 ATP/ADP 的比例, 导致  $K^+_{ATP}$  的关闭并诱发细胞膜的去极化, 进而诱导摄食相关神经肽的分泌、肠道激素或肝脏代谢的变化<sup>[36-37]</sup>。研究表明, 虹鳟可以通

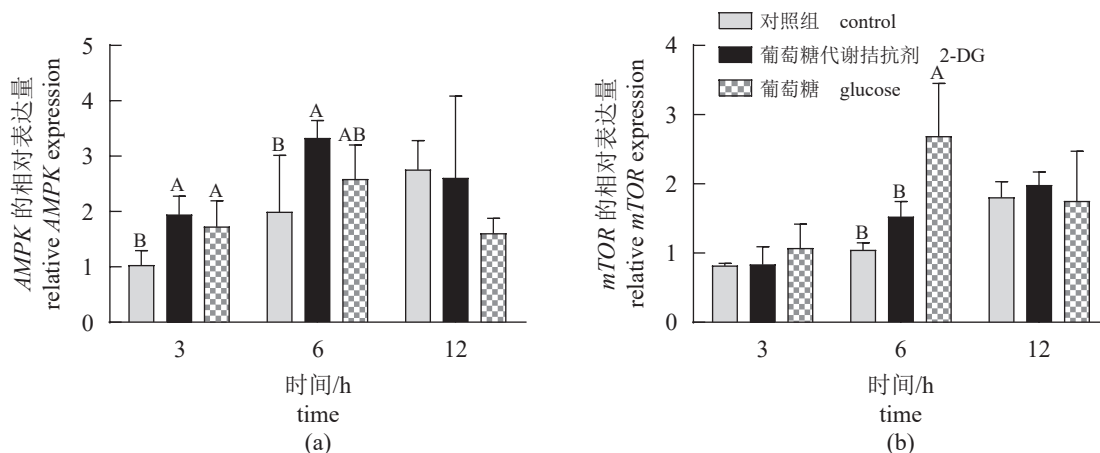


图6 脑室注射葡萄糖和2-DG不同时间点鳊肝脏AMPK和mTOR的表达量

Fig. 6 Relative expression of AMPK and mTOR in the liver of *S. chuatsi* after ICV administration of glucose and 2-DG at different times

过下丘脑的葡萄糖感受器 GK 感知到血糖水平的高低, 进而影响摄食<sup>[38]</sup>。在鳊的营养感知系统上, 国内有关研究团队已经证明了鳊下丘脑存在脂肪酸和氨基酸的感知系统并发挥摄食调节功能<sup>[39-40]</sup>, 然而有关鳊下丘脑是否存在葡萄糖感知系统尚不明确。本研究中, 脑室注射高糖显著刺激鳊下丘脑 *gk* (6 h) 和肝脏 *glut2* (3 h) 的基因表达量, 表明鳊下丘脑 *gk* 对脑室葡萄糖水平做出响应, 即鳊下丘脑可能存在葡萄糖感知系统。哺乳动物和鱼类中, AMPK 是机体能量平衡的感应器, 通过响应中枢神经系统和外周组织中的激素和营养信号发挥能量感知和调控功能。下丘脑 AMPK 和 mTOR 可以感知机体营养物质水平进而发挥中枢神经系统摄食调控作用<sup>[18]</sup>。研究表明, 亮氨酸添加促使哺乳动物下丘脑 mTOR 的基因表达水平和磷酸化水平增加<sup>[41-42]</sup>。本实验中, 鳊脑室注射葡萄糖后 mTOR 在下丘脑 (12 h) 和肝脏 (6 h) 中的基因表达水平显著上调, 表明其可能通过促进 mTOR 的表达促进机体合成代谢并影响摄食。因此, 上述研究表明, 鳊下丘脑 *gk* 可对脑室葡萄糖水平做出响应, 同时可能存在脑室葡萄糖感知系统, 推测通过 *gk* 和 *glut2* 对葡萄糖的感知调控 mTOR 的表达, 影响机体的代谢和摄食。

鱼类中枢神经系统的食欲调控主要由下丘脑弓状核 ARC 区域 (arcuate nucleus, ARC) 共表达的促食欲神经肽 Y (NPY)、神经肽刺鼠相关蛋白 (AgRP) 和共表达的抑食欲神经肽阿片促黑素细胞皮质素原 (POMC)、可卡因和苯丙胺调节转录肽 (CART) 组成<sup>[43]</sup>。中枢神经系统调控这两类食欲神

经肽的生成和释放, 并整合机体的代谢和内分泌信号, 共同调控食欲和摄食过程<sup>[43]</sup>。研究发现, 虹鳟在脑室注射或腹腔注射葡萄糖后, 下丘脑 *npv* 的基因表达水平降低, 而 *cart* 和 *pomc* 的基因表达水平均显著升高<sup>[44-45]</sup>。食欲基因的表达与机体 AMPK 和 mTOR 表达水平密切相关。虹鳟<sup>[46]</sup>和团头鲂<sup>[47]</sup>摄食富含脂质的饲料后 mTOR 的表达增加并抑制食欲。在花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 中, 下丘脑 mTOR 的激活调节 *pomc* 和 *npv* 的表达<sup>[48]</sup>。本研究中, 鳊脑室注射葡萄糖后下丘脑抑制食欲基因 *cart* (3 h) 基因表达显著升高, 表明 mTOR 的激活可能通过调控食欲基因来调控鳊的食欲, 最终影响摄食。因此, 脑室注射葡萄糖可能通过激活下丘脑 mTOR 调控食欲神经肽表达进而抑制鳊摄食。

肝脏是动物机体中间代谢调控的重要组织器官, 在鱼类糖代谢过程中发挥重要调控作用。糖酵解是糖代谢过程的重要途径, 己糖激酶 (HK) 是糖酵解途径中的第一个限速酶, 能催化葡萄糖磷酸化产生葡萄糖-6-磷酸, HK-IV 也被称作葡萄糖激酶 (GK)。磷酸果糖激酶 (PFK) 能催化果糖-6-磷酸形成果糖-1,6-二磷酸, 进而由丙酮酸激酶 (PK) 最终催化合成丙酮酸作为其他反应的底物。在水产动物中, 高糖饲料显著诱导大口黑鲈和金头鲷 (*Sparus aurata*) 等鱼类肝脏糖酵解相关基因 (*GK*、*PK* 和 *PFK*) 的表达和酶活性<sup>[18]</sup>。腹腔注射和灌喂葡萄糖后, 牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*) 肝脏 GK 和 PK 活性分别在 5 h 和 7 h 显著升高<sup>[49]</sup>。本研究中, 脑室注射葡萄糖显著提高鳊肝脏 *gk* (6 h) 和



*pk* (3 h) 的基因表达量, 表明促进了机体糖酵解过程。肝脏 *AMPK* 基因表达量在脑室注射葡萄糖后 3 h 显著增高, 表明鳊通过促进 *AMPK* 的表达抑制合成代谢。因此, 脑室注射葡萄糖对鳊肝脏合成代谢的抑制和糖酵解过程的显著增强, 表明脑室葡萄糖水平的升高可以通过促进肝脏的糖酵解为机体供能, 进而影响机体代谢过程。

综上所述, 脑室注射葡萄糖显著抑制鳊摄食量, 这一食欲抑制是通过促进下丘脑抑制食欲基因 *cart* (3 h) 的表达来实现的。高糖注射显著诱导下丘脑 *gk* (6 h) 的基因表达, 表明鳊下丘脑 *gk* 对脑室葡萄糖水平做出响应, 其可能存在葡萄糖感知系统。下丘脑 *gk* 的激活可能通过调控 *mTOR* 的激活发挥食欲基因的调控作用。另外, 脑室注射葡萄糖, 对肝脏 *mTOR* 和糖酵解关键基因进行了调控, 抑制合成代谢并促进糖酵解过程为机体供能进而影响机体代谢过程。本研究首次确认了鳊下丘脑 *gk* 对脑室葡萄糖的感知响应, 表明其下丘脑可能存在葡萄糖感知系统, 为鳊对饲料糖的高效利用和食欲调控研究提供了理论依据。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

- [1] Hatlen B, Grisdale-Helland B, Helland S J. Growth, feed utilization and body composition in two size groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in protein and carbohydrate content[J]. *Aquaculture*, 2005, 249(1-4): 401-408,
- [2] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, et al. Effects of carbohydrate source for maintaining a high C:N ratio and fish driven re-suspension on pond ecology and production in periphyton-based freshwater prawn culture systems[J]. *Aquaculture*, 2010, 301(1-4): 37-46,
- [3] Zhang Y T, Qin C B, Yang L P, et al. A comparative genomics study of carbohydrate/glucose metabolic genes: from fish to mammals[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 246,
- [4] Zhao W, Xie J J, Fang H H, et al. Effects of corn starch level on growth performance, antioxidant capacity, gut morphology and intestinal microflora of juvenile golden pompano, *Trachinotus ovatus*[J]. *Aquaculture*, 2020, 524: 735197,
- [5] Xiao Q Q, Li J, Liang X F, et al. Programming of high-glucose diet acceptance in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) following an early exposure[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 18: 100534,
- [6] Ma D M, Fan J J, Zhu H P, et al. Histologic examination and transcriptome analysis uncovered liver damage in largemouth bass from formulated diets[J]. *Aquaculture*, 2020, 526: 735329,
- [7] Staessen T W O, Verdegem M C J, Weththasinghe P, et al. The effect of dietary non-starch polysaccharide level and bile acid supplementation on fat digestibility and the bile acid balance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2020, 523: 735174,
- [8] Du R Y, Chen J X, Zhu J, et al. Glucose homeostasis and glucose tolerance were impaired with elevated lipid to starch ratios in practical diets for the omnivorous genetically improved farmed tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. *Aquaculture*, 2020, 523: 735221,
- [9] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴 2022[M]. 北京: 中国农业出版社, 2022.
- Ministry of Agriculture and Rural Fisheries Administration, National Fisheries Technology Extension Station, Chinese Fisheries Society. China fishery statistical yearbook 2022[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2022.
- [10] Liang H, He S, Liang X F, et al. Feeding habit transition induced by social learning through CAMK II signaling in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*)[J]. *Aquaculture*, 2021, 533: 736211,
- [11] Peng D, Liang X F, Chai F, et al. Effects of dietary carbohydrate to lipid ratios on growth, biochemical indicators, lipid metabolism, and appetite in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2022, 48: 101-116,
- [12] Zhang Y P, Liang X F, He S, et al. Metabolic responses of Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) to different levels of dietary carbohydrate[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2021, 47(5): 1449-1465,
- [13] Delgado M J, Cerdá-Reverter J M, Soengas J L. Hypothalamic integration of metabolic, endocrine, and circadian signals in fish: involvement in the control of food intake[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2017, 11: 354,
- [14] Oh T S, Cho H, Cho J H, et al. Hypothalamic AMPK-induced autophagy increases food intake by regulating NPY and POMC expression[J]. *Autophagy*, 2016,

- 12(11): 2009-2025,
- [15] Soengas J L. Integration of nutrient sensing in fish hypothalamus[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2021, 15: 653928,
- [16] Bertucci J I, Blanco A M, Sundarajan L, *et al.* Nutrient regulation of endocrine factors influencing feeding and growth in fish[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2019, 10: 83,
- [17] Conde-Sieira M, Soengas J L. Nutrient sensing systems in fish: impact on food intake regulation and energy homeostasis[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2017, 10: 603,
- [18] Xu J, Ji J, Yan X H. Cross-talk between AMPK and mTOR in regulating energy balance[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2012, 52(5): 373-381,
- [19] Yoon N A, Diano S. Hypothalamic glucose-sensing mechanisms[J]. *Diabetologia*, 2021, 64(5): 985-993,
- [20] Schneeberger M, Claret M. Recent insights into the role of hypothalamic AMPK signaling cascade upon metabolic control[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2012, 6: 185,
- [21] Feng H X, Peng D, Liang X F, *et al.* Intracerebroventricular injection with octanoic acid activates hypothalamic fatty acid sensing systems and regulates appetite in Chinese perch *Siniperca chuatsi*[J]. *Fisheries Science*, 2022, 88(1): 83-90,
- [22] Chen K, Zhang Z, Li J, *et al.* Different regulation of branched-chain amino acid on food intake by TOR signaling in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*)[J]. *Aquaculture*, 2021, 530: 735792,
- [23] Zou J M, Zhu Q S, Liang H, *et al.* Lysine deprivation regulates npy expression via GCN2 signaling pathway in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)[J]. *International Journal of Molecular Science*, 2022, 23(12): 6727,
- [24] De Andrade I S, Zemdegs J C S, De Souza A P, *et al.* Diet-induced obesity impairs hypothalamic glucose sensing but not glucose hypothalamic extracellular levels, as measured by microdialysis[J]. *Nutrition & Diabetes*, 2015, 5(6): E162,
- [25] Cha S H, Wolfgang M, Tokutake Y, *et al.* Differential effects of central fructose and glucose on hypothalamic malonyl-CoA and food intake[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(44): 16871-16875,
- [26] Pfaffl M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR[J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, 29(9): e45,
- [27] Blundell J E, Burley V J, Cotton J R, *et al.* Dietary fat and the control of energy intake: evaluating the effects of fat on meal size and postmeal satiety[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, 57(5): 772S-778S,
- [28] Gaysinskaya V A, Karatayev O, Chang G Q, *et al.* Increased caloric intake after a high-fat preload: relation to circulating triglycerides and orexigenic peptides[J]. *Physiology & Behavior*, 2007, 91(1): 142-153,
- [29] Schauf S, Salas-Mani A, Torre C, *et al.* Effect of feeding a high-carbohydrate or a high-fat diet on subsequent food intake and blood concentration of satiety-related hormones in dogs[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(1): e21-e29,
- [30] Polakof S, Míguez J M, Soengas J L. Dietary carbohydrates induce changes in glucosensing capacity and food intake of rainbow trout[J]. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2008, 295(2): R478-R489,
- [31] You J J, Ren P, He S, *et al.* Histone methylation of H3K4 involved in the anorexia of carnivorous mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) after feeding on a carbohydrate-rich diet[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2020, 11: 323,
- [32] Baños N, Baró J, Castejón C, *et al.* Influence of high-carbohydrate enriched diets on plasma insulin levels and insulin and IGF-I receptors in trout[J]. *Regulatory Peptides*, 1998, 77(1-3): 55-62,
- [33] Su J Z, Mei L Y, Xi L W, *et al.* Responses of glycolysis, glycogen accumulation and glucose-induced lipogenesis in grass carp and Chinese longsnout catfish fed high-carbohydrate diet[J]. *Aquaculture*, 2021, 533: 736146,
- [34] Shi H J, Liu W B, Xu C, *et al.* Molecular characterization of the RNA-binding protein quaking-a in *Megalobrama amblycephala*: response to high-carbohydrate feeding and glucose/insulin/glucagon treatment[J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 434,
- [35] Liu C Z, He A Y, Ning L J, *et al.* Leptin selectively regulates nutrients metabolism in Nile tilapia fed on high carbohydrate or high fat diet[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2018, 9: 574,
- [36] Evans M L, McCrimmon R J, Flanagan D E, *et al.* Hypothalamic ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels play a key role in sensing hypoglycemia and triggering counterregulatory

- epinephrine and glucagon responses[J]. *Diabetes*, 2004, 53(10): 2542-2551,
- [37] Marty N, Dallaporta M, Thorens B. Brain glucose sensing, counterregulation, and energy homeostasis[J]. *Physiology*, 2007, 22(4): 241-251,
- [38] Polakof S, Míguez J M, Soengas J L. Changes in food intake and glucosensing function of hypothalamus and hindbrain in rainbow trout subjected to hyperglycemic or hypoglycemic conditions[J]. *Journal of Comparative Physiology A*, 2008, 194(9): 829-839,
- [39] Luo H X, Liang X F, Li J, *et al.* Effect of long-chain saturated and unsaturated fatty acids on hypothalamic fatty acid sensing in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2020, 241: 110395,
- [40] Wang Q, Liang X F, Gao J, *et al.* Lysine regulates TOR and NPY through taste receptor T1R1 in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*)[J]. *Aquaculture*, 2022, 559: 738445,
- [41] Hu F, Xu Y, Liu F. Hypothalamic roles of mTOR complex I: integration of nutrient and hormone signals to regulate energy homeostasis[J]. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2016, 310(11): E994-E1002,
- [42] Pena-Leon V, Perez-Lois R, Seoane L M. mTOR pathway is involved in energy homeostasis regulation as a part of the gut-brain axis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(16): 5715,
- [43] Soengas J L, Cerdá-Reverter J M, Delgado M J. Central regulation of food intake in fish: an evolutionary perspective[J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2018, 60(4): R171-R199,
- [44] Conde-Sieira M, Agulleiro M J, Aguilar A J, *et al.* Effect of different glycaemic conditions on gene expression of neuropeptides involved in control of food intake in rainbow trout; interaction with stress[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2010, 213(22): 3858-3865,
- [45] Conde-Sieira M, Ceinos R M, Velasco C, *et al.* Response of rainbow trout's (*Oncorhynchus mykiss*) hypothalamus to glucose and oleate assessed through transcription factors BSX, ChREBP, CREB, and FoxO1[J]. *Journal of Comparative Physiology A*, 2018, 204(11): 893-904,
- [46] Librán-Pérez M, Geurden I, Dias K, *et al.* Feeding rainbow trout with a lipid-enriched diet: effects on fatty acid sensing, regulation of food intake and cellular signaling pathways[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2015, 218(16): 2610-2619,
- [47] Dai Y J, Jiang G Z, Yuan X Y, *et al.* High-fat-diet-induced inflammation depresses the appetite of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) through the transcriptional regulation of leptin/mammalian target of rapamycin[J]. *British Journal of Nutrition*, 2018, 120(12): 1422-1431,
- [48] Liang X F, Han J, Xue M, *et al.* Growth and feed intake regulation responses to anorexia, adaptation and fasting in Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* when fishmeal is totally replaced by plant protein[J]. *Aquaculture*, 2019, 498: 528-538,
- [49] Liu D, Guo B Y, Han D D, *et al.* Comparatively study on the insulin-regulated glucose homeostasis through brain-gut peptides in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* after intraperitoneal and oral administration of glucose[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2018, 266: 9-20,

## Effects of intracerebroventricular injection of glucose on feeding and glucose metabolism in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)

ZENG Yanzhi<sup>1,2</sup>, LI Hongyan<sup>1,2,3\*</sup>, WANG Guangjun<sup>1,2,3</sup>, XIE Jun<sup>1,2,3</sup>, TIAN Jingjing<sup>1,2,3</sup>,  
GONG Wangbao<sup>1,2,3</sup>, XIA Yun<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Kai<sup>1,2,3</sup>, LI Zhifei<sup>1,2,3</sup>, YU Ermeng<sup>1,2,3\*</sup>

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,

Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;

3. Hainan Fisheries Innovation Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Sanya 572000, China)

**Abstract:** Diets containing high levels of carbohydrate could inhibit the feeding in many fish species, but the relevant mechanisms behind this regulation are not clear. The mandarin fish (*Siniperca chuatsi*), a typical carnivorous fish, exhibits an apparent anorexia due to its extensive intolerance to dietary carbohydrates, which limits its value as a cultured species. To investigate the existence of a glucose sensing system in the hypothalamus of *S. chuatsi* and its effect on feed intake, intracerebroventricular (ICV) injections of saline (control), 2-DG (glucose metabolism antagonist, 100 mg/kg) and glucose (10 mg/kg) were performed, exploring the impacts on feeding and glucose metabolism at 3, 6 and 12 h. The results showed that ICV of glucose significantly inhibited the feed intake of mandarin fish, while the plasma glucose levels remained constant at different time points. The expression of glucokinase (*gk*) were significantly induced at 6 h after ICV administration of glucose, indicating the presence of a glucose-sensing system in the hypothalamus of mandarin fish. ICV administration of glucose significantly promoted the mRNA levels of the cocaine and amphetamine-regulated transcriptional peptide (*cart*) at 3 h, which may be related to the significant upregulation of *mTOR* in the hypothalamus (12 h) and liver (6 h) of mandarin fish. In addition, ICV administration of glucose significantly induced the expression of *gk* (6 h) and *pk* (3 h) in the liver of mandarin fish to promote glycolysis, suggesting the promotion of catabolism for energy supply through perceived glucose levels in the hypothalamus. In conclusion, this study demonstrates for the first time that *gk* in the hypothalamus can response to the glucose level, suggesting the potential existence of glucose sensing system in the hypothalamus of mandarin fish, and that ICV administration of glucose regulates the AMPK/mTOR pathway through *gk*-induced glucose sensing, which in turn regulates the expression of appetite-related genes to inhibit feed intake. The present study would provide a theoretical basis for research on the carbohydrate utilization and feeding regulation in mandarin fish.

**Key words:** *Siniperca chuatsi*; glucose-sensing system; intracerebroventricular injection; feeding regulation; glucose metabolism

**Corresponding authors:** LI Hongyan. E-mail: [lihongyan@prfri.ac.cn](mailto:lihongyan@prfri.ac.cn);

YU Ermeng. E-mail: [yem@prfri.ac.cn](mailto:yem@prfri.ac.cn).

**Funding projects:** Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2023A1515010008); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2022SJ-XK1); China Agriculture Research System (CARS-45-21)