〈平成14年度〉

アミノ酸の脳室内投与による摂食・異常行動発現機序の解明

村上　昇
（宮崎大学農学部獣医学科教授）

1. はじめに

現代社会は食文化社会といっても過言でないほど，多くの食品や加工品が食卓に並ぶ。摂食は生物が有する普遍的な本能の中でも，固体生命を維持するために極めて重要な生理機構である。摂食量の恒常性は精密に遺伝的な神経機構（特に視床下部腹内側核と外側視床下部，および室傍核によって）で制御されていると考えられてきた。しかし，現代社会での過食による肥満，栄養過多による肥満あるいは摂食拒否による拒食症などは遺伝性要素とは無関係に，日常的に起こる問題としてクローズアップされており，摂食制御が単に精密な遺伝的神経機構の支配によるものではないという考えを支持するに至った。近年，脂肪組織から分泌されるレプチンの発見により，物質による摂食の抑制機構が判明し，過食症障害への治療に一歩前進した。一方，摂食促進物質の発見は遅れていたが，我々は，近年，胃で生産されるghrelinという28個のアミノ酸からなる蛋白質が摂食促進ホルモンであることを発見した[1]。このghrelinは摂食促進のみではなく，成長ホルモンを過剰に分泌させるため，成長にも大きく寄与していることも判明した。このghrelinの研究を契機に，種々のアミノ酸の脳室内投与における摂食効果を予備的に検討した結果，アミノ酸の中には，1）摂食を誘起するものや抑制するもの，2）行動異常を来たすもの，3）鬱状態の沈静化を来たすもの，など様々な作用が見出された。アミノ酸は食品の中でも，主要な成分であることから，このようなアミノ酸の脳内機序を解明することは食品と健康の観点から極めて重要と思われた。そこで本研究では，予備実験をふまえて，アミノ酸の中枢作用，特に摂食や行動への作用を明らかにすることを目的とした。

2. 材料および方法

使用動物および主な実験方法は以下のとおりである。

（1）使用動物：雄のSprague-Dawleyラット（7週齢～8週齢）および，雄のWitarラット（7週齢～8週齢）をCharles River Japan Inc（横浜，日本）から購入し，8週齢～10週齢まで，12時間明・12時間暗（7時点灯，19時消灯）の照明条件，および室温22±1℃の環境下で飼育した後，実験に供した。この間，餌（CE-2，日本クレア株式会社）および水は自由摂取状態とした。例外的に，絶食実験の場合は，餌のみを除去し，水は自由に摂取させた。

すべての動物実験は日本生理学会の実験動物の取り扱い規定，および宮崎大学実験動物委員会規定に準拠して行った。

（2）側脳室投与：Pentobarbital sodium（4.5mg/100gBW）の腹腔内投与により麻酔した後，脳定位固定装置（narusige，東京）を用い，頭部を固定した。Inreraurlから前方に8.0mm，正中から左方向に1.5mmの位置に歯科用ドリルで穴を開け，その左右2ヶ所に精密ネジ（1.4×

2.5mm）をはめ込んだ。先の穴に，ステンレスガイドカニューレ（15mm,内径0.6mm，外径0.9mmで下から3mmの位置にはめ込んだもの)を脳表面から垂直下方に3.0mm挿入し，その位置で歯科用セメントを用いて脳にカニューレを固定した[2, 3]。セメントが乾燥した後，サルファ剤を塗布し，切開部を皮膚縫合した。手術後，回復期間を4日とり，その後実験を行った。27G注射針がつながったマイクロシリンジにて，各種アミノ酸を無麻酔，無拘束下で投与した。アミノ酸は生理食塩水（あるいは0.1%HCLに溶解した後に）に溶き，10 μlを投与した。

（3）　免疫組織化学[4, 5]：アミノ酸投与による摂食への効果が，脳内摂食関連ペプチドを介している可能性を検討するため，摂食関連ペプチドのニューロペプチドY（NPY），アグーチ関連ペプチド（AGRP）およびプレオピオメラノコルチン（POMC）の抗体を用いて，それらの細胞を同定し，どの細胞にFos蛋白質が発現したかを2重免疫染色で観察した。アミノ酸投与90分後に脳を取り出した。クリオスタットを使用し，厚さ18 μ mの脳の凍結切片を作製した。新鮮な1％ PFA溶液で10分間切片を固定した後，0.1MPBSによる洗浄を3回行い，1.5%正常ロバ血清と3％ BSAの入ったPBSTでブロッキングを行った。1.5%正常ロバ血清と3％BSAの入ったPBSTを溶媒とし，ヤギFos抗体（4000倍）とウサギNPY抗体（2000倍），ウサギAGRP抗体（4000倍），ウサギPOMC抗体（2000倍）とのカクテルをそれぞれ作成した。さらに特異性を調べるため，Fos抗体とAGRP抗体の中に合成AGRPを1 μl/mlとなるように加え，4℃ で一晩インキュベートしたものを対象に用いた。作成した各溶液をそれぞれ切片にのせ，湿潤箱中にて4℃ で36時間～40時間インキュベーションした。その後PBSTによる洗浄を3回行った。続いて，1.5%正常ロバ血清と3％ BSAの入ったPBSTを溶媒とし，ロバ抗ヤギ抗体（500倍）とロバ抗ウサギ抗体（2000倍）のカクテルを作成し，切片にのせ室温で30分間インキュベートした。その後PBSによる洗浄を7分間ずつ3回行った。切片は488 donkey anti-rabbit，Alexa Fluor 546 donkey anti-goat IgG（H＋L）に対する波長488，546nmの蛍光フィルターとデジタルカメラ（Axio Cam HRC，ZEISS）が付属された共焦点正立型蛍光顕微鏡（Axioskop 2plus，ZEISS）によって観察した。またその撮影された画像はAxioVision3.1ソフトウェアパッケージ（ZEISS）により得られた。

（4）　摂食関連遺伝子mRNAのリアルタイムPCRによる定量：アミノ酸投与90分後に脳を取り出し，弓状核を直径780 μ mのパスツールピペットでパンチアウトした。各個体からの弓状核はホモジナイズ後，RNeasy Micro Kit（Qiagen）を用いてmRNAの抽出及び精製を行った[6]。iScript cDNA Synthesis Kit（Qiagen）を用いて各サンプルのcDNAを合成した。PCRの反応は5 μlのcDNA，各プライマー250 μ M，0.5×iQ SYBER Green Supermix（Qiagen）そして4 μlのFree Waterをチューブに入れ，タッピングを行い，95℃・180秒で変性させ，94℃・15秒の変性，68℃・45秒のアニーリングで伸長させるプロトコールに準じた。また増幅反応はiCycler（Bio-Rad Laboratories）を用いて行った。なお設計したプライマーは以下のとおりである。

GAPDH sense:5'CGGCAAGTTCAACGGCACA
　anti-sense:5'AGACGCCAGTAGACTCCACGACA
NPY sense:5'CTGTGTGGACTGACCCTCGCTCTAT
　anti-sense:5'CATGTCCTCTGCTGGCGCGTCCTCG
AGRP sense:5'TCTGAAGAAGACAGCAGACCGA
　anti-sense:AGCGACGCGGAGAACGAGACT
POMC sense:5'GACCTCACCACGGAAAGCAACCTG
　anti-sense:ACTTCCGGGGATTTTCAGTCAAGGG

（5）摂食中枢，室傍核の電位記録：Pentobarbital sodium（大日本製薬　ネンブタール）の腹腔内投与で麻酔されたラットの頭部を，脳定位固定装置（Narisige，東京）固定し，電極埋設用に，正中にある縫合線に沿って歯科用ドリルでBregmaから後方に長さおよそ7～8mm，幅3～4mmの穴をあけ，側脳室カニュレーション用には，Interauralから前方に8.0mm，正中から右方向に1.5mmの位置に歯科用ドリルで頭骸骨を貫通しない程度に窪みをつけ目印とした。左前頭骨，右前頭骨，後頭骨頭頂部の3ヶ所に穴をあけてネジ（2×6mm）を固定した。このネジは，後に電極および側脳室投与用カニューレを固定するために使用する歯科用セメントのアンカーとなる。次に電極埋設用に開けた穴の正中にある血管の左側の硬膜を27G注射針で切開した。ここで先に側脳室カニュレーション用につけておいた印の位置に穴を開けた。電極は先端を手術直前に，プラチナイリジウム線がガイドとしてのステンレススチール管から約1mm露出するよう鋏でトリミングを行った。室傍核への電極埋設は，Interauralから前方に6.9～7.2mm，正中から左方向に0.25mm，硬膜表面から鉛直下方へ7.5～7.6mmの範囲内でそれぞれのラットの体重を考慮して行った。電極埋設後，歯科用セメント（株式会社ジーシーデンタルプロダクツ，UNIFASTⅡ）を流し込み，側脳室カニュレーション用の穴までカバーしてしまっているセメントを硬化前に速やかに除去し，硬化後，ステンレスガイドカニューレ（ユニークメディカル　内径0.6Φ，外径0.9Φ，長さ15mmの下から4mmの位置に半田をつけたもの）を硬膜表面から鉛直下方へ3.0mmの位置に固定し，再度セメントを流し込み硬化させた。術創はセメントで完全に覆われているため，またラットがPentobarbital sodium麻酔から覚醒してすぐインフルレンによる吸入麻酔に切り替え多電極電位の測定を開始するため，切開部の皮膚縫合は行わなかった。Multiple Unit Activity測定装置として，ヘッドステージ・アンプSYGNUS社ER-1，データ取得装置ADInstruments社Power Lab，データ解析ソフトADInstruments社Chart5.1 for Windows，デジタルオシロスコープIWATSU社BRINGOを使用した。ラットはイソフルレンで持続的に麻酔された状態でシールドケージ内に入れられた。電極とヘッドステージを接続し，リファレンスとしてシールド線に21G注射針を取り付けたものを肩甲骨上の皮下に設置した。アンプの増幅率は20.000倍，20kHzのサンプリングレートで100～3kHzのバンドパスフィルターおよびハムフィルターをかけ自動測定した。アンプから出力されたシグナル（データ取得用Power Labからの出力）は，パーソナルコンピュータに出力され，Chart形式で保存された。保存した生データはリアルタイムでSpike Histogramにかけられ，Disciminator上で適宜決定したthresholdの範囲に入る30秒あたりのスパイク数をrate meterで表示させた。

3. 結　　果

3.1 アミノ酸の側脳室投与による摂食に及ぼす影響

ラットにおいて各種アミノ酸の血中濃度を測定してみると（**Fig. 1**），グリシン，グルタミン酸，アラニン，リジンが多く存在し，タウリン，セリン，バリン，ロイシン，アルギニン，プロリンが中間的な値を示した。一方，アスパラギン酸，メチオニン，イソロイシン，チロシン，フェニルアラニン，ヒスチジンなどはかなり低値であった。これら血中の濃度と脳脊髄液中や脳血管中の濃度には必ずしも相関していないことが知られている。脳内のアミノ酸の作用を見るために，まず，側脳室投与における摂食への影響を検討した。

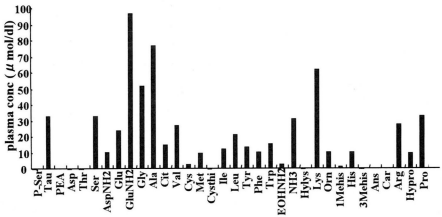


Fig. 1　Plasma concentrations of various amino acids in intact rats. Amino acid concentrations were measured by automatic HPLC detection system.

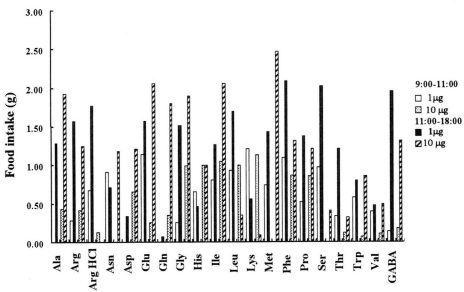


Fig. 2　Effect of a single icv injection of amino acids on the food intake in rats. Amino acid was injected at 8:45h.

Fig. 2は午前8時45分～9時にアミノ酸を投与し，投与後2時間と，その後暗期開始までの9時間の摂食量を，**Fig. 3**は24時間の摂食量を検討したものである。投与量はそれぞれ，1μgと10μgを用いた。生理食塩水投与では2時間で0.5±0.04gまたその後の9時間は1.8±0.6gであった。これに対し，アミノ酸投与群では各群のバラツキが大きく（標準誤差は大きいのでグラフが見づらく，図中に入れていない）摂食量に大きな差が認められた。また，抑制効果が認められたものの多くは行動異常を示したため，摂食への効果の判定からは除外した。その中で，グルタミン酸，フェニルアラニン1μg投与において投与2時間に有意な増加が，また，グリシ1μgにおいて有意な抑制が認められた。しかし，24時間で比較すると，有意な差はなく，このことから，2時間での差は急性効果と推測された。

3.2　グリシンの摂食抑制の機序について

摂食抑制効果が，空腹状態でも起るのかを検討するため，12時間の夜間絶食を行い，その後にアミノ酸を側脳室に投与し，2時間，9時間および24時間の摂食量を測定した。その結果，**Fig. 4**に示すように，グリシン，セリン，リジン1μg投与により24時間の摂食量の有意な抑制が認められ

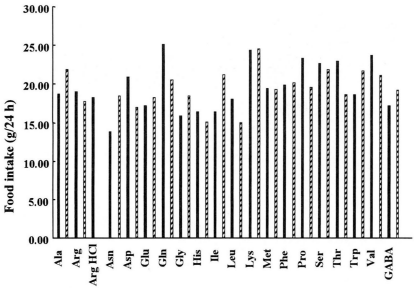


Fig. 3 Effect of a single icv injection of amino acids on food intake in rats. Amino acid was injected at 8:45h and 24h food intake was measured. Black and dotted bar represent the food intake in 1 and 10 μg amino acid injected rats, respectively.

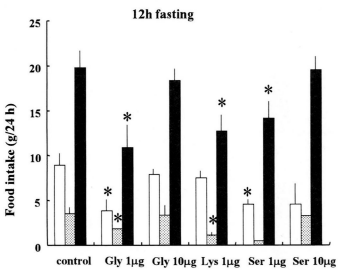


Fig. 4 Effect of a single icv injection of amino acids on food intake in 12h fasted rats. Fasting was performed between 21:00h and 9:00h. Amino acid was injected at 8:45h. Each bar and vertical line represent the mean ± SEM of 6 rats. Asterisks indicate significant difference（$P < 0.05$ vs. saline-treated rats）

た。グリシン，セリンでは2時間，9時間でも，リジンでは9時間でも同様に抑制された。

グリシン投与が，ラットの満腹中枢の一つである室傍核の電気活動にどのように影響を及ぼしているのかを検討した。その結果，**Fig. 5**に示すように，神経の発火頻度の有意な減少が認められた。室傍核は弓状核から種々の摂食関連ペプチド，NPY，AGRPあるいはα—MSHの影響を受けている[7]。そこで，これらの摂食関連ペプチドがグリシンによって制御されているのかを検討するため，グリシン投与後の弓状核のNPY，AGRPおよびα— MSH前駆体POMCのmRNA発現をリアルタイムPCRで測定した。その結果，**Fig. 6**に示すように，グリシン投与は摂食抑制遺伝子のPOMCmRNAの発現を促進した。摂食抑制系はこのPOMC系と室傍核のCRH系がある[8]。そこで，グリシン投与後の室傍核のCRHmRNAを測定したところ，CRHmRNA発現も同様に促進さ

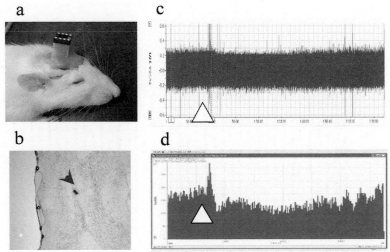


Fig. 5　Effect of icv injection of glycine on multiunit activity record in paraventricular nucleus in rats. a: photograph of rat loaded multi electrode on head. b: histological section of brain including paraventricular nucleus inserted electrode tip. Arrowhead indicates the position of electrode tip. c: example of fireling record before and after icv injection of glycine. Arrowhead indicates the time of injection. d: integrated record of fireling rate in paraventricular nucleus before and after icv injection of glycine.

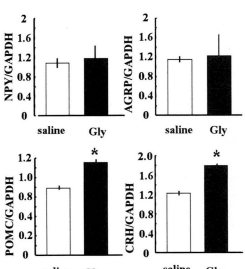


Fig. 6　Effect of icv injection of glycine on the expression of NPY, AGRP and POMC mRNA in arcuate nucleus and CRH mRNA in paraventricular nucleus in rats. The data are represented as the value relative to GAPDH mRNA. The bar and vertical lines represent the mean±SEM (n=8). Asterisks indicate significant difference ($P<0.05$ vs. saline-treated rats)

れた。

POMC mRNAがグリシンで影響を受けたことから，次にPOMC細胞にグリシンが直接作用しているか否かを確認するために，神経活性の指標となるc-Fos蛋白質とPOMCに対する抗体を用いた2重免疫染色法で検討した。**Fig. 7**に示すように，弓状核のPOMC細胞の一部にFosが発現した。

3.3　アミノ酸の側脳室投与による行動に及ぼす影響

ラットの側脳室に各種アミノ酸を投与すると，幾つかのアミノ酸では，異常行動が発現した。それらの代表を**Table 1**に示した。ヒスチジン，セリンおよびリジン投与ではグルーミング行動[8]が顕著に現れた。セリンとアルギニンの多量投与では一方向（側方）回転で体をぐるぐる回転させる行動（barrel rolling）が現れた。グリシン投与は行動を抑制し，沈静化した。アラニンはふらふらする行動を発現させた。アスパラギン酸は舞踏病的な行動を誘発し，プロリンは歯軋りや鳴く行動を誘起した。

アミノ酸の側脳室投与による急性効果において，行動量に変化があったものを**Fig. 8**に示した。グリシンは明らかに行動抑制を，リジン，ヒスチジンでは行動促進が認められた。

barrel rolling行動は極めて異常な行動であるため，その機序を明らかにするため，アルギニンを例にして，投与後のFosの発現を調べた。その結果，**Fig. 9**に示すように，側脳室投与により，投与側の大脳皮質に著しいFosの発現が認められ，対

Table 1　Effect of icv injection of amino acid on the behavior in rats

Amino acid	dose（μg）	Type of abnormal behavior	n/treated
His	1	grooming	4/4
Lys	1	grooming	4/4
Ser	1	grooming	3/4
Ser	100	barrel rolling	2/4
Gly	1	calming	4/4
Ala	100	bobbles	1/4
Arg	1000	barrel rolling	3/4
Asn	10	bobble	4/4
Asp	100	choreiform	3/4
Pro	1000	bleat	3/4

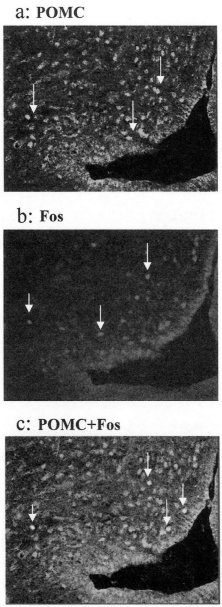


Fig. 7　Representative photomicrographs of c-Fos and POMC immunoreactive cell in arcuate nucleus. Rats were killed 90 min after icv injection of glycine. Arrowhead indicates the POMC (a), Fos (b) and POMC and Fos (C) stained cells, respectively.

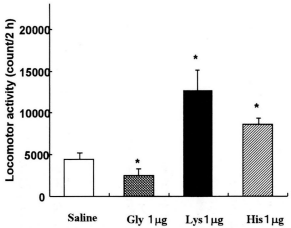
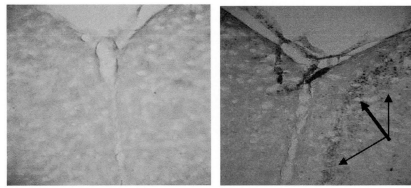


Fig. 8　Total locomotor activities for 2 hrs after icv injection of various amino acids. Each bar and vertical line represent the mean ± SEM of 6 rats. Asterisks indicate significant difference（P<0.05 vs. saline-treated rats）

側には発現しなかった。この片側性Fosの発現がbarrel rolling行動の原因と推測された。

次に，アミノ酸投与後の体温変化について検討した[10]。アミノ酸投与は行動量とともに，体温の変化も誘発した（**Fig. 10**）。グリシンの側脳室投与20分後に体温低下を，またリジン，ヒスチジンは体温の一過的上昇を認めた。しかし，これらは40分後には基礎レベルへ戻った。

グリシン投与による行動抑制が生体時計に影響を与える可能性を検討するため，ラットを恒常暗下で飼育し，自由継続リズムを記録した[11]。フリーランニングリズムが一定の周期で記録されるようになったところで，様々な時刻にグリシンを側脳室へ投与した。**Fig. 11**はそれぞれ投与した時の代表図を示している。グリシンを活動期に投与



control　　arginine

Fig. 9　Representative photomicrographs of c-Fos immunoreactive cell after icv injection of saline and arginine. Arrowhead indicate the Fos immunoreactive cells.

Fig. 10　Time course of change in body temperature after icv administration of glycine (diagonal line bar), lysine (dotted bar) and histidin (black bar). White bar indicate saline group. Each bar and vertical line represent the mean ± SEM of 6 rats. Asterisks indicate significant difference ($P<0.05$ vs. saline-treated rats)

すると，投与時刻に関係なく，行動は著しく抑制された。しかし，リズムそのものには，影響が認められなかった。位相反応プロット図を作成してみると，すべての投与時刻でリズムの位相変移は起こっていなかった。

4. 考　　察

アミノ酸の脳室内投与は摂食や行動に様々な変化を起こした。一般に，血中のアミノ酸濃度は変動しても，脳内のアミノ酸濃度は極めて正確に一定量を保持すると言われている。これは恐らく，今回のように，アミノ酸自身が摂食や行動に直接影響を及ぼすため，それを防御する機構が存在するためかも知れない。例えば，グルタミン酸は神経伝達物質として興奮性に作用するが，もし，グルタミン酸の脳内濃度が上昇すれば，興奮状態に陥る。これを防御するためにいろいろな制御機構が推測されている。その一つが，グリア細胞によるグルタミン酸の取り込みである。過剰なグルタミン酸をグリアが取り込み，神経細胞への作用を防御しているのかも知れない。今回の研究では，摂食に関するアミノ酸の機序として，グリシンによる抑制作用機序を検討したが，室傍核での電気活動が減少したことから，明らかにグリシンの摂食抑制効果はグリシンの副作用ではなく，摂食機構への直接作用と思われる。室傍核にはCRHと言う摂食抑制物質が存在する[8]。グリシン投与により室傍核のCRHmRNAが増加したことにより，グリシンの摂食抑制が，この室傍核のCRH放出に関係していることが推測された。また，グリシン投与後にFosの発現が弓状核のPOMC細胞に認められたこと，および，弓状核のPOMCmRNA発現が増加したことから，グリシンの摂食抑制は室傍核のみならず，弓状核のPOMC細胞へ作用し，摂食抑制ペプチドα— MSHを介している可能性が強く示唆された。これらの結果から，ある種のア

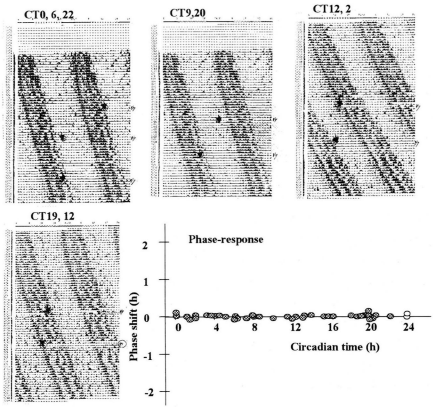


Fig. 11 A: Examples of locomotor activity records before and after icv injection of glycine. The graph shows superimposed plots for 2 days. Each triangle indicates the time and day of icv injection of glycine. Right lower figure represent the phase-response plot of all data.

ミノ酸は摂食調節中枢の弓状核に作用し，また，摂食中枢（満腹中枢）の室傍核へ作用して，摂食に影響を与えるものと結論された。

アミノ酸の側脳室投与は，摂食のみならず，行動にも変化を誘発した。ヒスチジン，セリン，リジン投与ではグルーミング行動が顕著に現れた。セリンとアルギニンの多量投与では一方向(側方)回転で体をぐるぐる回転させる行動，barrel rollingが現れた。グリシン投与は行動を抑制し，沈静化した。アラニンはふらふらする行動を発現させた。アスパラギン酸は舞踏病的な行動を誘発し，プロリンは歯軋りや鳴く行動を誘起した。これら特徴的な行動異常の原因は今回の研究では明らかでないが，例えばbarrel rolling行動においては，回転運動時にFosの発現が大脳皮質において片側性に認められたことから，運動や姿勢反射において，片側のみ亢進したためbarrel rollingが起った可能性が推測される。この推測は，投与を反対側の側脳室に行うと，回転方向が逆になった（未発表）ことからも，確かめられた。

グリシンを投与すると明らかに行動抑制が認められたが，生体リズムへの影響は認められなかった。体温の減少は，行動減少に伴うものなのか，あるいは体温中枢への直接作用であるのかは，今回の研究では明らかではない。

以上，今回の研究では，ある種のアミノ酸が摂食のみならず，行動異常を誘起することを示しており，食生活での注意を喚起するものである。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり，多大な研究助成を頂きました財団法人　浦上食品・食文化振興財団に深謝いたします。

参考文献

1） M. Nakazato, N. Murakami, Y. Date, M. Kojima, H. Matsuo, K.Kangawa, S. Matsukura.
A role for ghrelin in the central regulation of feeding. Nature 409, 194-198, 2001.

2） Y. Date, M. Nakazato, N. Murakami, M. Kojima, K. Kangawa, S. Matsukura.
Ghrelin Acts in the Central Nervous System to Stimulate Gastric Acid Secretion Biochem. Biophys. Res. Commun. 280, 904-907, 2001.

3） N. Murakami, T. Hayashida, T. Kuroiwa, K. Nakahara, T. Ida, M. S. Mondal, M. Nakazato, M. Kojima, K. Kangawa. Role for central ghrelin in food intake and secretion profile of stomach ghrelin in rats. J. Endocrinology. 174, 283-288, 2002.

4） T. Hayashida, K. Murakami, K. Mogi, M. Nishihara, M. Nakazato, M. S. Mondal, Y. Hori, M. Kojima, K. Kangawa and N. Murakami. Ghrelin in domestic animals: distribution in stomach and its possible role. Domes. Anim. Endocrinol. 21, 17-24, 2001.

5） T. Hayashida, K. Nakahara, M. S. Mondal, M. Nakazato, M. Kojima, K. Kangawa, K. Shiota and N. Murakami. Ghrelin in neonatal rats: distribution in stomach and its possible role. J. Endocrinology 173, 239-245.

6） K. Nakahara, R. Hanada, N. Murakami, H. Teranishi, H. Ohgusu, N. Fukushima, M. Moriyama, T. Ida, K. Kangawa, M. Kojima. The gut-brain peptide neuromedin U is involved in the mammalian circadian oscillator system. Biochem. Biophys. Res. Commun. 318, 156-161, 2004.

7） T. Ida, K. Nakahara, T. Kuroiwa, M. Nakazato, T. Murakami and N. Murakami. Both corticotropin releasing factor（CRF）and neuropeptide Y（NPY）are involved in the effect of orexin（hypocretin）on the food intake in rats. Neuroscience Lett. 293, 119-122, 2000.

8） R. Hanada, H. Teranishi, J. T. Pearson, M. Kurokawa, H. Hosoda, N. Fukushima, Y. Fukue, R. Serino, H. Fujihara, Y. Ueta, M. Ikawa, M. Okabe, N. Murakami, M. Shirai, H. Yoshimatsu, K. Kangawa, M. Kojima. Neuromedin U has a novel anorexigenic effect independent of the leptin-signaling pathway. Nature Med. 10, 1067-1073, 2004.

9） T. Ida, K. Nakahara, T. Katayama, N. Murakami and M. Nakazato. Effect of lateral cerebro-ventricular injection of appetite stimulating neuropeptide, orexin and neuropeptide Y, on the various behavioral patterns in rats. Brain Res. 821, 526-529, 1999.

10） K. Nakahara, Y. Egi, M. Kojima, R. Hanada, T. Ida, M. Miyazato, K. Kangawa, N. Murakami Neuromedin U is involved in nociceptive reflexes and adaptation to environmental stimuli in mice. Biochem. Biophys. Res. Commun. 323, 615-620, 2004.

11） K. Mori, M. Miyazato, T. Ida, N. Murakami, R. Serino, Y. Ueta, M. Kojima, K. Kangawa.
Identification of neuromedin S and its possible role in the mammalian circadian oscillator system. EMBO J 24,325-35, 2005.

Study on the mechanism of food intake and abnormal behavior induced by intracerebroventricular injection of amino acids

Noboru Murakami

(Department of Veterinary Physiology, Faculty of Agriculture, Miyazaki University)

Effect of intracerebroventricular (icv), injection of amino acids on the food intake and behavior was examined in rats. A single icv injection of glutamic acid and phenylalanine stimulated food intake. On the other hand glycine suppressed them. Glycine, serine and lysine also suppressed food intake in 12 h fasted rats. Multi unit activity of fireling rate of neuron in paraventricular nucleus was decreased after icv injection of glycine. In addition, glycine increased expression of both POMC mRNA in arcuate nucleus and CRH mRNA in paraventricular nucleus. Immunohistochemistry revealed that c-Fos expression was induced in POMC cells in arcuate nucleus.

Icv injection of amino acids resulted in several abnormal behavior in rat. Histidin, serine and lysine induced grooming behavior. A large amount of serine and arginine induced barrel rolling. Glycine and alanine resulted in typical calming and bobble, respectively. Aspartic acid and praline induced choreiform and bleat, respectively. Acute total locomotor activity was increased and decreased by a single icv injection of lysine, histidin and glycine, respectively. In barrel rolling rats induced by arginine, c-Fos expression was observed in only one side of cerebral cortex. Body temperature also affected by icv injection of amino acids. Glycine decreased body temperature 20 min after injection. On the other hand lysine and histidin increased them. Although glycine decreased locomotor activity and body temperature, it did not change the circadian free-running rhythm of locomotor activity.

These results indicate that various amino acids may play important roles in feeding regulation and physiological behaviors.