흰쥐 뇌에서 렙틴과 콜레시스토키닌의 병합투여로 유도된 Fos 발현

연세대학교 대학원
의 학 과
김 영 욱

흰쥐 뇌에서 렙틴과 콜레시스토키닌의 병합투여로 유도된 Fos 발현

지도 강 호 석 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2001년 12월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

김 영 욱

김영욱의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 ________________________ 인

심사위원 ________________________ 인

심사위원 ________________________ 인

심사위원 ________________________ 인

심사위원 ________________________ 인

연세대학교 대학원

2001년 12월 일

감사의 말씀

이 논문을 완성함에 있어 지도편달을 아끼지 않으신 강호석 교수님께 감사를 드리고 큰 관심을 가지시고 자문해 주신 심영학 교수님, 정성우 교수님, 김수기 교수님께 감사를 드립니다. 이 논문의 계획부터 완성까지 학문적 동반자가 되어 주신 황태선 교수님께 감사를 드리고 조언해 주신 조병필 교수님, 정춘희 교수님께도 감사를 드립니다. 쥐 수술, 면역염색 그리고 세포 계수 등에 큰 도움을 주신 포천중문 의과대학교의 강원석, 유경숙 선생님께 감사를 드립니다. 박사학위 심사를 받을 수 있도록 배려해 주신 서울병원 강성인 원장님께 감사를 드립니다.

오늘의 제가 있기까지 눈물의 기도와 끝없는 사랑을 베풀어주신 부모님과 시부모님께 감사를 드리고 이 모든 것을 허락하신 하나님께 감사와 영광을 돌립니다.

목 차

그 림 목 차

국 문 요 약

흰쥐 뇌에서 렙틴과 콜레시스토키닌의 병합투여로 유도된 Fos 발현

단기간의 식욕을 억제시키는 물질인 콜레시스토키닌과 장기간의 식욕을 억제시키는 물질인 렙틴이 상승적으로 식욕억제 및 체중을 감소시킨다는 보고가 발표되고 있다. 그러나 이에 대한 작용기전과 부위에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않다. 본 연구에서 렙틴과 콜레시스토키닌의 상승작용을 나타낼 수 있는 부위를 살펴보기 위해 금식시킨 쥐에 뇌실로 렙틴 3 ㎍을, 복강으로 콜레시스토키닌 2 ㎍/㎏을 단독 혹은 병합투여한 후 Fos 발현되는 신경세포를 면역염색하여 조사하였다. Fos 발현은 신경 활성 경로를 추적하는데 사용되어 왔다. 지금까지 렙틴과 콜레시스토키닌이 작용한다고 알려진 뇌의 부분인 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위, 무릎위핵, 맨아래구역, 맨아래구역이 관찰되는 위치에서 고립로핵의 안쪽부위와 맞교차부위에서 Fos 발현을 관찰하였다. 렙틴 투여 용량에 따른 Fos 발현의 차이를 배제하기 위해 뇌실로 렙틴을 1.5 ㎍, 3 ㎍, 10 ㎍을 각각 투여한 후 뇌의 각 부분에서 Fos 발현을 관찰하였다. 뇌실로 렙틴 용량을 1.5 ㎍, 3 ㎍, 10 ㎍ 투여시 렙틴용량에 따라 뇌의 각 부위에서 Fos 발현세포의 수에는 차이가 없었다. 렙틴 투여 후 Fos 발현 세포의 수가 증가된 곳은 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위, 무릎위핵, 맨아래구역, 고립로핵의 안쪽부위였다. 콜레시스토키닌 투여 후 Fos 발현 세포의 수가 증가한 부위는 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽

시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위, 고립로핵의 안쪽부위였다. 이 부위들은 콜레시스토키닌의 포만효과 정보를 전달하는 미주들신경경로의 분지부위와 대체로 일치하였다. 본 결과를 통해 콜레시스토키닌의 포만효과 정보는 미주들신경을 통해 고립로핵에 도달하고 고립로핵에서 팔곁핵으로 전달되어 팔곁핵에서 시상하부에 위치한 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵과 변연계에 위치한 편도체의 중심핵으로 전달된다는 가설을 세울 수 있다. 콜레시스토키닌과 렙틴의 병합투여시 각각 단독투여시 보다 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위, 고립로핵의 안쪽부위에서 Fos 발현이 통계학적으로 의의있게 증가되었다. 이 결과는 식욕조절에 있어 렙틴과 콜레시스토키닌의 상승작용을 매개하는 부위는 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위, 고립로핵의 안쪽부위임을 시사한다.

핵심되는 말 : 렙틴, 콜레시스토키닌, Fos, 상승작용, 섭식

흰쥐 뇌에서 렙틴과 콜레시스토키닌의 병합투여로 유도된 Fos 발현

<지도 강 호 석 교수>

연세대학교 대학원 의학과

김 영 욱

I. 서 론

비만은 유병률이 높을 뿐만 아니라 당뇨병, 고혈압, 고지혈증 등과 같은 질환들과 연관되어 있기 때문에 산업화 사회에서 중요한 보건문제로 대두되고 있다. 그러나 아직까지 비만의 발생원인에 대한 정확한 기전이 알려져 있지 않고 이에 따라 뚜렷한 치료법 역시 개발되지 못하고 있다. 최근 유전 및 분자생물 기법의 발달을 통해 에너지 소비 (energy expenditure) 및 섭식신호를 조절하는 생리학적 체계와 섭식조절을 하는 새로운 펩타이드들이 밝혀지고 있다.

렙틴은 OB 유전자에서 전사되어 지방조직 (adipose tissue)에서 발현되고 (Zhang등, 1994) 식욕조절, 열생산 및 내분비 조절에 관여하는 물질로 알려져 있다 (Friedman 및 Halaas, 1998). OB 유전자에 열성변이가 있는 ob/ob 생쥐는 사람의 비만과 유사한 비만 및 당뇨를 유발하는데 (Coleman, 1978) 이 생쥐에 렙틴을 투여하면 지방조직을 감소시켜 체중이 감소된다 (Halaas등, 1995; Pelleymounter등, 1995). 즉 렙틴은 지방세포에서 분비된 후 시상하부에 작용하여 섭식을 억제시키고 에너지 소비를 증가시켜 체중감소를 유발한다 (Friedman 및 Halaas, 1998). 렙틴 수용체는 생쥐 맥락얼기 (choroid plexus)에서 처음 분리되었고 활꼴핵 (arcuate nucleus)에도 풍부하게 관찰되며 ob-R(db) 유전자에서 전사된다 (Tartaglia 등, 1995). 렙틴 수용체는 여러 시상하부핵인 활꼴핵, 배쪽안쪽시

상하부핵 (ventromedial hypothalamus nucleus, VMH), 등쪽안쪽시상하부핵 (dorsomedial hypothalamus nucleus, DMH), 뇌실곁핵 (paraventricular nucleus, PVN), 가쪽시상하부핵 (lateral hypothalamic nucleus, LH)에서 발견된다 (Tartaglia등, 1995). 렙틴이 렙틴 수용체에 결합하게 되면 Janus kinases (JAKs)와 signal transducers and activators of trascription (STAT) 신호전달체계를 활성화시켜 작용을 나타낸다 (Vaisse등, 1996). 렙틴이 시상하부에 위치한 렙틴 수용체에 결합하게 되면 STAT-3가 활성화되고 이어 *c-fos* gene이 활성화되어 Fos 단백질이 형성된다. Fos 단백질이 Jun 단백질과 결합하면 AP-1이란 전사조절인자를 형성하여 렙틴의 발현을 조절한다 (Ahima등, 2000). 한편 STAT-3가 활성화되면 SOCS(suppressors of cytokine signaling)가 활성화되면서 STAT-3의 활성을 억제하여 렙틴 작용을 억제하게 된다 (Friedman 및 Halaas, 1998; Ahima 등, 2000). 렙틴의 작용은 시상하부의 렙틴수용체를 가지는 신경세포에서 분비되는 여러 신경 펩타이드를 통해 나타난다. 렙틴은 식욕촉진물질인 neuropeptide Y (NPY), agouti related peptide (AgRP), melanoconcentrating hormone (MCH), orexin을 감소시키고 식욕억제물질인 α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH), cocaine and amphetamine related transcript (CART), CRH (corticotrophin releasing hormone)를 증가시킴으로 체중감소를 유발시킨다 (Flier 및 Maratos-Flier, 1998; Friedman 및 Halaas, 1998). 여러 연구에서 렙틴 투여에 의해 활성화되는 세포의 표지자로 *c-fos* 유전자의 산물인 Fos 단백질을 사용하였다 (Van Dijk등, 1996; Woods 및 Stock 1996; Elmquist등, 1997; Elias등, 2000). Fos 단백질은 신경내분비 상태의 변화에 반응하여 뇌에서 활성화되는 세포의 표지자로 사용되어 왔고 신경경로(neuronal pathway)를 추적하는데 사용되어 왔다 (Dragunow 및 Faull, 1989; Hoffman등, 1993). Fos 단백질은 핵 안에 위치하므로 세포질에 있는 물질을 이중면역염색법으로 밝혀 활성화된 신경세포의 표현형 (phenotype)을 규명할 수 있는 장점이 있다 (Dragunow 및 Faull, 1989). Woods 및 Stock(1996)은 ob/ob 마우스에 렙틴을 복강으로 투여한 후 뇌실곁핵 (paraventricular nucleus, Pa)에서 Fos 단백질이 발현되는 것을 처음으로 보고하였고, Van Dijk 등 (1996)은 렙틴을 뇌실로 투여한 후 뇌실곁핵, 등쪽안쪽시상하

부핵, 편도체의 중심핵 (central nucleus of amygdala, Ce)에서 Fos 발현이 증가됨을 보고하였다. Niimi 등 (1999)은 otsuka long-evans tokushima fatty rat에서 뇌실과 복강으로 렙틴을 투여한 후 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 활꼴핵에서 Fos가 발현됨을 보고하였다. 초기 연구자들은 렙틴 투여 후 주로 시상하부에서 Fos가 발현된다고 보고하였으나 이후 팔곁핵 (parabrachial nucleus)의 위쪽가쪽부위 (superior lateral subdivision, LPBS)와 바깥가쪽부위 (external lateral subdivision, LPBE), 무릎위핵 (supragenual nucleus, SGe), 고립로핵 (nucleus tractus solitarius, NTS)에서도 Fos 발현이 보고되어 렙틴이 뇌줄기에도 작용한다고 알려져 있다 (Elias등, 2000).

섭식조절은 렙틴 이외에도 여러 식욕조절물질에 의해서 이루어지는데 이 중 콜레시스토키닌 (cholecystokinin, CCK)은 음식물을 섭취하면 십이지장에서 분비되는 물질로 (Mutt 및 Jorpes, 1971) 섭식을 감소시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Gibbs등, 1973; Antin등, 1975). 콜레시스토키닌은 식후 포만작용(satiety action)을 통해 단기간의 섭식억제를 유발하는 것으로 알려져 있는데, 그 작용기전은 콜레시스토키닌이 미주신경 (vagus nerve)에 있는 수용체에 작용하여 미주신경을 자극하고 (Zarbin등, 1981; Schwartz등, 1993) 이 신호가 고립로핵을 통해 식욕과 관련된 시상하부에 전달되는 것으로 알려져 있다(Crawley등, 1984; Crawley 및 Schwaber, 1984; Smith등, 1985; South 및 Ritter, 1988). 콜레시스토키닌을 복강에 투여할 경우 Fos가 발현되는 부위로는 뇌실곁핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵(supraoptic nucleus), 등쪽안쪽시상하부핵, 팔곁핵의 바깥가쪽부위, 맨아래구역 (area postrema), 고립로핵, 편도체의 중심핵이 알려져 있다 (Luckman, 1992; Chen등, 1993; Li 및 Rowland, 1994; Day 등, 1994).

렙틴과 콜레시스토키닌을 함께 투여 했을 때 렙틴 혹은 콜레시스토키닌을 단독으로 투여했을 때 보다 장기간 (Matson등, 1997; Matson 및 Ritter, 1999; Matson등, 2000) 혹은 단기간의(Barrachina등, 1997; Emond등, 1999) 섭식량을 감소시킨다고 보고되고 있다. 그러나 아직까지 콜레시스토키닌과 렙틴 병합투여가 상승적으로 식욕을 억제시키는 작용기전과 부위에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않다. 최근 Fos 단백질을 이용하여 콜레시스토키닌과 렙틴 병합투여가 상승적으

로 식욕을 억제시키는것과 관련된 부위를 찾으려는 연구들이 시도되고 있다. Wang등(1998)은 뇌실옆핵에서, Emond등(1999)은 맨아래구역, 고립로핵의 안쪽부위와 꼬리쪽부위, 뇌실곁핵에서 단독투여시보다 병합투여군에서 Fos발현이 증가됨을 보여 이 부위들이 콜레시스토키닌과 렙틴의 병합투여시 관찰되는 식욕억제 상승효과와 관련된 부위일 가능성을 제시하였다. Broberger 등(1998)은 렙틴이 주로 작용하는 부위인 활꼴핵의 neuropeptide Y(NPY), agouti gene-related peptide (AgRP) 신경세포에서 팔곁핵으로 많은 신경섬유가 지나감을 증명하였고 콜레시스토키닌의 단기간 포만신호가 도달하는 고립로핵에서 팔곁핵으로 많은 신경섬유가 지나간다는 사실 (Herbert등, 1990)을 그들의 발견과 연관지어 팔곁핵이 장기간 섭식신호와 단기간의 섭식신호가 통합되는 부위가 될 수 있음을 제안하였다. 주로 시상하부에만 작용한다고 알려졌던 렙틴의 작용 범위가 뇌줄기로 넓어졌기 때문에 본 연구에서는 뇌줄기를 포함하여 좀 더 광범위한 부분에서 콜레시스토키닌과 렙틴의 병합투여시 렙틴 혹은 콜레시스토키닌 단독투여시에 비해 Fos 발현이 상승적으로 일어나는 부위를 살펴봄으로써 식욕억제에 있어 렙틴과 콜레시스토키닌의 상승작용을 나타낼 수 있는 가능한 부위를 찾아보았다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에 사용된 실험동물은 체중 약 250 g 정도의 Sprague-Dawley계의 수컷 흰쥐 65 마리였다. 65 마리의 쥐를 약물 주입 1주일 전 pentobarbital Na (2mg/kg, 복강투여)과 ketamine HCl (60 mg/kg, 근육투여)으로 마취 후 stereotaxic instrument를 사용하여 가쪽뇌실 (lateral cerebral ventricle)에 21 gauge cannula를 장착시켰다. 좌표는 bregma로부터 오른쪽으로 1.5 mm, 뒤로 1 mm 였으며 머리뼈 바깥부위에서 4.7 mm 깊이까지 cannula가 닿도록 하였다. 모든 쥐는 아침 8시를 기준으로 12시간 : 12시간 밤낮 주기로 22±1℃로 유지되는 air-filter cage에서 키우고 적어도 일주일에 3번 이상 충분한 먹이와 물을 공급하였다. 본 연구에 사용된 약물은 렙틴 (Biomol research laboratories, Pennsylvania, USA)과 콜레시스토키닌 (Tocris, Missouri, USA)이었다.

2. 실험 방법

2.1 렙틴 투여 용량에 따른 Fos 발현의 차이

뇌실로 렙틴을 투여할 경우 투여 용량에 따라 Fos 발현 부위 및 발현정도를 본 연구가 없으므로, 렙틴 용량에 따른 Fos 발현의 차이 때문에 생기는 실험내 편견(bias)을 최소화하고 본 실험에 투여할 렙틴 용량을 결정하기 위해 렙틴 양을 다르게 뇌실로 투여한 후 Fos 발현정도를 비교하였다.

Cannula를 가쪽뇌실에 장치하여 6일간 안정시킨 후 24시간 먹이공급을 중단하였다. 실험 동물은 3군으로 나누고 각 군 당 5마리의 실험동물을 사용하였다. 공복이 끝나는 시간에 1군은 뇌실로 렙틴 1.5㎍, 복강으로 식염수 2 ㎕, 2군은 뇌실로

렙틴 3 μg, 복강으로 식염수 2 μℓ, 3군은 뇌실로 렙틴 10 μg, 복강으로 식염수 2 μℓ를 투여하였다. 렙틴은 ether로 마취 후 26 gauge cannula를 사용하여 1분에 걸쳐 투여하였다. 렙틴은 Tris 용액 (0.1mol/ ℓ, pH 8.0)에 1μg/μℓ 농도로 녹여 사용하였다. 렙틴을 뇌실로 투여하고 2 시간 후에 ether 과마취로 희생시켰다.

2.2 렙틴과 콜레시스토키닌 병합투여가 Fos 발현에 미치는 영향

Cannula를 가쪽뇌실에 장치하여 6일간 안정시킨 후 24시간 동안 먹이공급을 중단하였다. 실험 동물은 4군으로 나누었다. 공복이 끝나는 시간에 1군(10마리)은 뇌실로 Tris 용액 3μℓ, 복강으로 식염수 2μℓ, 2군(10마리)은 뇌실로 Tris 용액 3μℓ, 복강으로 CCK-8 2μg/kg, 3군(16마리)은 뇌실로 렙틴 3μg, 복강으로 식염수 2μℓ, 4군(14마리)은 뇌실로 렙틴 3μg, 복강으로 CCK-8 2μg/kg을 투여하였다. 렙틴 혹은 Tris 용액은 ether로 마취 후 26 gauge cannula를 사용하여 1분에 걸쳐 투여하였다. 렙틴 혹은 Tris 용액 투여 직후에 식염수 혹은 sulfate CCK-8을 복강에 투여하고 2시간 후에 ether 과마취로 희생시켰다.

3. 표본제작 및 면역조직화학염색

Cannula가 잘 장착되어 약물이 뇌실로 잘 들어갔는지 확인하기 위해 희생직후 10 μℓ의 hematoxylin 용액을 뇌실에 투여하였다. 4% paraformaldehyde를 포함하는 0.1 M phosphate buffer (이하 PB, pH 7.4, 4℃) 용액으로 심장관류 고정을 실시하였고 뇌를 적출하여 다시 동일 고정액에 12시간 동안 추가 고정을 실시하였다. 동결로 인한 파괴방지 (cryoprotection)를 위하여 이 조직을 다시 30% sucrose를 포함하는 0.1 M PB 용액에 3 5일 동안 넣어 조직이 가라앉혔다. 액체질소 속에 담가둔 isopentane에 급속 냉동시키고 Tissue-Tek O.C.T. compound로 포매하여 동결절편기(cryostat)를 이용하여 두께 40μm의 관상절편을 얻어 0.02M phosphate buffered saline (이하 PBS, pH 7.4, 4℃)용액에 모았다.

조직을 PBS 용액으로 3번 세척하여 동결조직 내에 함유된 O.C.T. compound

성분을 제거하였다. 3% H_2O_2를 함유한 PBS로 실온에서 20-30 분간 방치한 후 PBS 용액으로 10분간 3회 세척하였다. 단백질에 의한 비특이적 면역반응을 막기 위해서 blocking reagent (Scytek, USA)로 실온에서 1시간 전처리 하고 1차 항체로 rabbit anti-Fos를 0.3% Triton X-100이 함유된 PBS용액에 희석(1:10000)하여 4℃에서 48시간 반응시킨 후, PBS로 세척하였다. 이어서 2차 항체로 ultraTek Anti-Polyvalent Biotinylate Antibody (Scytek, USA)로 실온에서 2시간 반응시키고 PBS로 세척하였다. UltraTek HRP (Scytek, USA) 용액에 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 PBS로 10분간 3번 세척하였다. 이어서 3′-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)에 실온에서 10분간 두어 발색 반응시킨 후, 증류수로 발색반응을 정지시키고, 염색한 조직절편은 슬라이드 글라스에 부착 후 실온에서 12시간 이상 건조한 다음 알코올로 탈수, xylene으로 청명, 봉입 과정을 거친 후 현미경으로 관찰하였다.

4. 관찰, 계수 및 분석

흰쥐 뇌에 관한 도보 (Paxinos 및 Watson, 1998; Paxinos, 1999a; Paxinos, 1999b)를 참고하여 각 핵군을 확인하고 계수 하였다. 뇌실곁핵 (paraventricular nucleus), 시각교차뒤구역 (retrochiasmatic area), 가쪽시상하부핵 (lateral hypothalamic nucleus), 편도체의 중심핵 (central nucleus of amygdala), 시각로위핵 (supraoptic nucleus), 활꼴핵 (arcuate nucleus), 배쪽안쪽시상하부핵 (ventromedial hypothalamic nucleus), 등쪽안쪽시상하부핵 (dorsomedial hypothalamic nucleus), 배쪽유두체앞핵 (ventral premammillary nucleus), 팔곁핵 (parabrachial nucleus)의 위쪽가쪽부위 (superior lateral subdivision)와 바깥가쪽부위 (external lateral subdivision), 무릎위핵 (supragenual nucleus), 맨아래구역 (area postrema), 맨아래구역이 관찰되는 위치에서 고립로핵 (nucleus of the solitary tract)의 안쪽부위 (medial area)와 맞교차부위 (commissural area)등의 15개 부위에서 Fos 단백질이 염색된 신경세포의 수를 광학현미경으로 세었다. 한

부위당 6개 이상의 조직절편을 세었으며, 계수한 수치는 SPSS computer program 을 이용하여 통계처리 하였다.

5. 통계

결과치는 평균값 ± 표준편차 (mean ± standard deviation)로 표시하였다. 실험군간의 차이는 결과치를 순위화한 후 일원배치 분산분석 (ANOVA)의 Duncan 검정으로 다중비교 (multiple comparison)하여 결정하였고 각 군간의 의의있는 통계학적 차이는 $P < 0.05$ 로 하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 렙틴 투여 용량에 따른 Fos 발현의 차이

렙틴 1.5㎍, 3㎍, 10㎍ 투여군 사이에 Fos 발현정도에는 차이가 없었다 (그림 1).

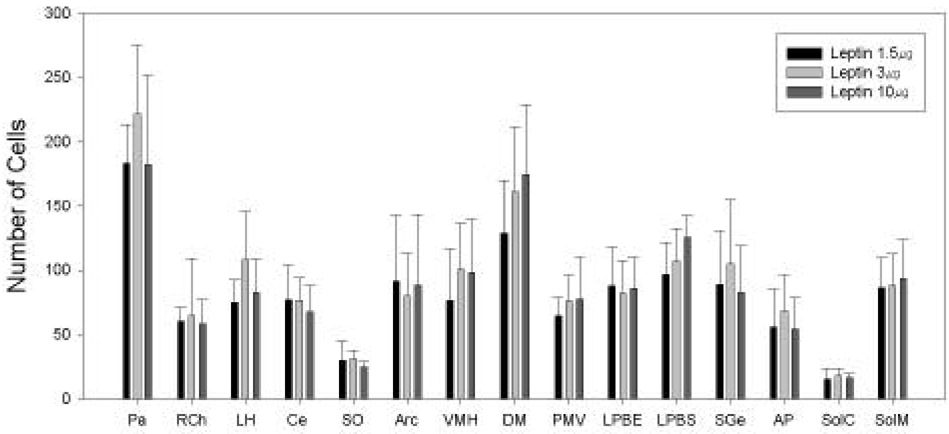

그림 1. 렙틴 투여 용량이 Fos 발현에 미치는 영향. 실험군을 세 군으로 나누고 흰쥐의 뇌실로 렙틴을 각각 1.5 ㎍, 3 ㎍, 10 ㎍ 투여하였으며 뇌의 여러 부위에서 Fos가 발현된 세포의 수를 세었다. 각 실험군 간에 통계학적으로 유의한 차이는 없었다.

2. 렙틴과 콜레시스토키닌 병합투여가 Fos 발현에 미치는 영향

콜레시스토키닌 투여 후 Fos 발현 세포의 수가 증가된 곳은 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위, 고립로핵의 안쪽부위였다 (그림 2).

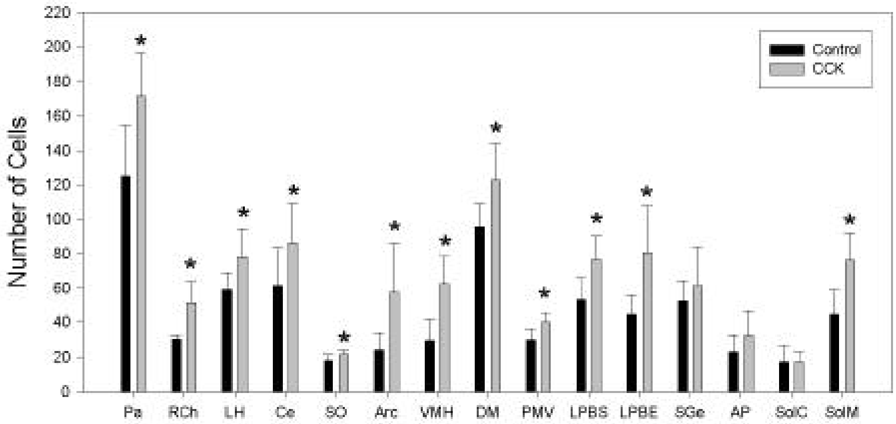

그림 2. 콜레시스토키닌 투여가 뇌 각 부분의 Fos **발현에 미치는 영향. 콜레시스토키닌** 2 ㎍**을 복강에 투여한 후** Fos **발현된 세포의 수를 대조군과 더불어 표시하였다. 뇌실결핵** (Pa), **시각교차뒤구역** (RCh), **가쪽시상하부핵** (LH), **편도체의 중심핵** (Ce), **시각로위핵** (SO), **활꼴핵** (Arc), **배쪽안쪽시상하부핵** (VMH), **등쪽안쪽시상하부핵** (DH), **배쪽유두체앞핵** (PMV), **팔곁핵의 위쪽가쪽부위** (LPBS)**와 바깥가쪽부위** (LPBE), **고립로핵의 안쪽부위** (SolM)**는 대조군에 비해** Fos **발현이 통계학적으로 증가하였다.** *: $P < 0.05$

렙틴 투여 후 Fos **발현 세포의 수가 증가된 곳은 뇌실결핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위, 무릎위핵, 맨아래구역, 고립로핵의 안쪽부위였다** (**그림** 3).

뇌실결핵에서 콜레시스토키닌 단독투여군이나 렙틴 단독투여군의 경우 대조군 (125±30 cells/section)**에 비해** Fos **발현세포의 수가 각각** 37% (172±25 cells/section), 56% (195±54 cells/section) **증가하였다. 병합투여군은 대조군에 비해** 109% (261±61 cells/section)**가 증가하였고 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해** 52%, **렙틴 단독투여군에 비해** 34% **증가된 것으로 이는 통계학적으로 유의하**

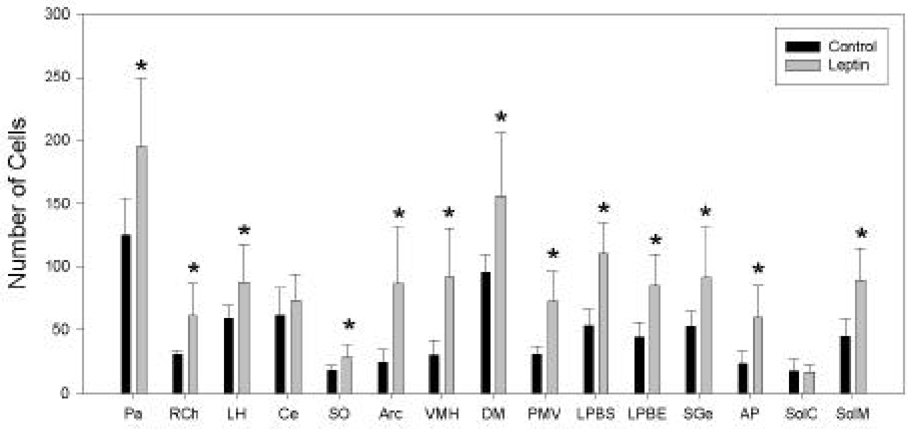

그림 3. 렙틴 투여가 뇌 각 부분의 Fos 발현에 미치는 영향. 렙틴 3 ㎍을 뇌실로 투여한 후 Fos 발현된 세포의 수를 대조군과 함께 나타내었다. 뇌실곁핵 (Pa), 시각교차뒤구역 (RCh), 가쪽시상하부핵 (LH), 시각로위핵 (SO), 활꼴핵 (Arc), 배쪽안쪽시상하부핵 (VMH), 등쪽안쪽시상하부핵 (DM), 배쪽유두체앞핵 (PMV), 팔곁핵의 위쪽가쪽부위 (LPBS)와 바깥가쪽부위 (LPBE), 무릎위핵 (SGe), 맨아래구역 (AP), 고립로핵의 안쪽부위 (SolM)는 대조군에 비해 Fos 발현이 통계학적으로 증가되었다. *: $P < 0.05$

였다($P < 0.05$; 그림 4, 그림 7).

시각교차뒤구역에서 콜레시스토키닌 단독투여군이나 렙틴 단독투여군의 경우 대조군 (31±2 cells/section)에 비해 Fos 발현세포의 수가 각각 68% (52±12 cells/section), 97% (61±26 cells/section) 증가하였다. 병합투여군 (79±21 cells/section)은 대조군에 비해 155%가 증가되었고 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 52%, 렙틴 단독투여군에 비해 30% 증가된 것으로 이는 통계학적으로 유의하였다($P < 0.05$; 그림 4, 그림 8). 배쪽안쪽시상하부핵에서 콜레시스토키닌 단독투여이나 렙틴 단독투여군의 경우 대조군 (30±12 cells/section)에 비해 Fos 발현세포의 수가 각각 110% (63±16 cells/section), 207% (92±38 cells/section) 증가하였다. 병합투여군은 대조군에 비해 287% (116±22 cells/section)가 증가되었고

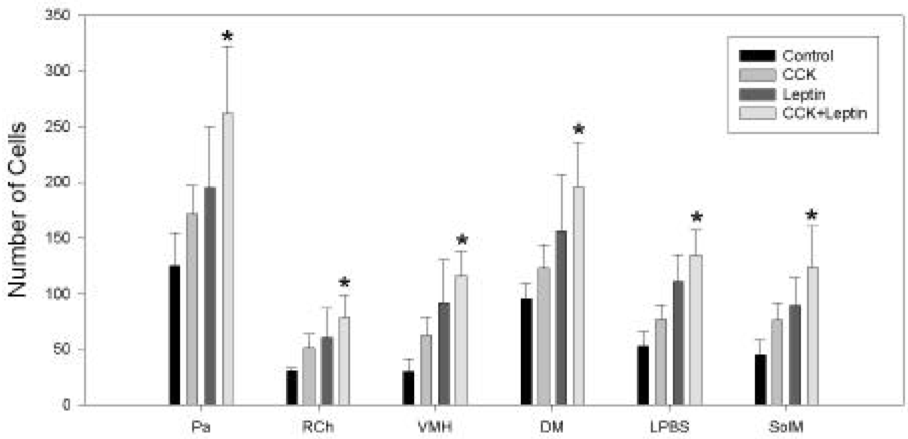

그림 4. 렙틴이나 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 병합투여군에서 Fos 발현이 증가된 부위. 뇌실곁핵 (Pa), 시각교차뒤구역 (RCh), 배쪽안쪽시상하부핵 (VMH), 등쪽안쪽시상하부핵 (DM), 팔곁핵의 위쪽가쪽부위 (LPBS), 고립로핵의 안쪽부위 (SolM)에서 병합투여군이 렙틴 혹은 콜레시스토키닌 단독 투여군에 비해 유의하게 Fos 발현이 증가하였다. *: $P < 0.05$

이는 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 84%, 렙틴 단독투여군에 비해 26% 증가된 것으로 이는 통계학적으로 유의하였다($P < 0.05$; 그림 4, 그림 9). 등쪽안쪽시상하부핵에서 콜레시스토키닌 단독투여군이나 렙틴 단독투여군의 경우 대조군 (96±14 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포의 수가 각각 28% (123±21 cells/section), 63% (156±50 cells/section) 증가하였다. 병합투여군은 대조군에 비해 103% (195±41 cells/section)가 증가하였고 이는 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 59%, 렙틴 단독투여군에 비해 25% 증가된 것으로 통계학적으로 유의하였다 ($P < 0.05$; 그림 4, 그림 10). 팔곁핵의 위쪽가쪽부위에서 콜레시스토키닌 단독투여군이나 렙틴 단독투여군의 경우 대조군 (53±13 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포의 수가 각각 45% (77±14 cells/section), 109% (111±24 cells/section) 증가하였다. 병합투여군에서는 대조군에 비해 155% (135±22 cells/section) 증가하였

으며 이는 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 75%, 렙틴 단독투여군에 비해 22% 증가된 것으로 통계학적으로 유의하였다(P < 0.05; 그림 4, 그림 11). 고립로핵의 안쪽부위에서 콜레시스토키닌 단독투여군이나 렙틴 단독투여군의 경우 대조군 (45±14 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포의 수가 각각 69% (76±16 cells/section), 100% (90±25 cells/section) 증가하였다. 병합투여군에서는 대조군

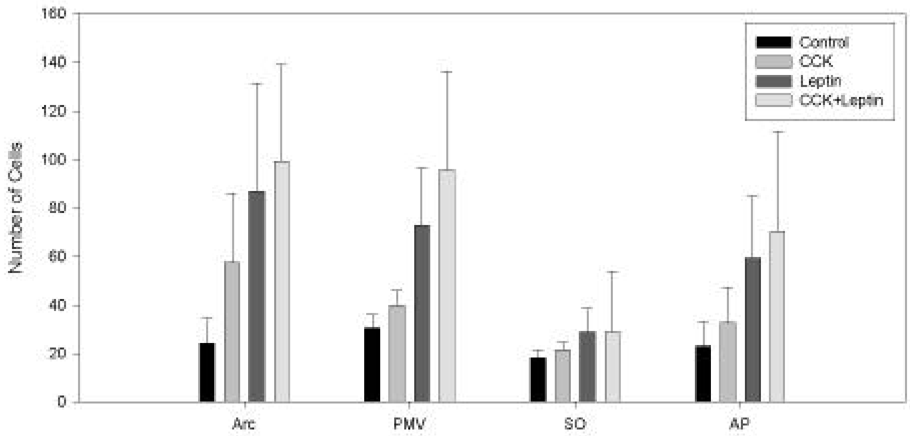

그림 5. 렙틴과 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 병합투여군에서 Fos 발현이 통계학적으로 증가하지 않은 부위(I). 활꼴핵 (Arc), 배쪽유두체앞핵 (PMV), 시각로위핵 (SO), 맨아래구역 (AP)에서는 병합투여군이 단독투여군에 비해 Fos 발현이 유의한 차이를 보이지 않았다.

에 비해 173% (123±37 cells/section) 증가하였고 이는 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 62%, 렙틴 단독투여군에 비해 37% 증가된 것으로 통계학적으로 유의하였다(P < 0.05; 그림 4, 그림 12).

활꼴핵에서 콜레시스토키닌 단독투여군 (58±29 cells/section)이나 렙틴 단독투여군 (87±45 cells/section)은 대조군 (24±10 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포의 수가 증가하였다. 병합투여군 (99±40 cells/section)에서는 Fos 발현 세포의 수가 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 증가하였으나 렙틴 단독투여군에 비해 통

계학적으로 증가하지 못했다(그림 5).

배쪽유두체앞핵도 활꼴핵과 유사한 양상을 보여 콜레시스토키닌 단독투여군 (40±6 cells/section)이나 렙틴 단독투여군 (73±23 cells/section)은 대조군 (30±6 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포의 수가 증가하였다. 병합투여군 (96±41 cells/section)에서는 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 Fos 발현 세포의 수가 증가하였으나 렙틴 단독투여군에 비해 통계학적으로 증가하지 못했다(그림 5).

시각로위핵도 활꼴핵과 유사한 양상을 보여 콜레시스토키닌 단독투여군 (22±3 cells/section)이나 렙틴 단독투여군 (29±10 cells/section)은 대조군 (18±3 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포의 수가 증가하였다. 병합투여군 (29±7 cells/section)에서는 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 Fos 발현 세포의 수가 증가하였으나 렙틴 단독투여군에 비해 통계학적으로 증가하지 못했다(그림 5).

맨아래구역에서 콜레시스토키닌 단독투여군 (33±15 cells/section)은 대조군 (23±10 cells /section)에 비해 Fos 발현 세포의 수가 증가하지 않았고 렙틴단독투여군 (59±26 cells/section)은 대조군에 비해 증가하였다. 병합투여군 (70±41 cells/section)은 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 Fos 발현 세포의 수가 증가하였으나 렙틴 단독투여군에 비해서는 통계학적으로 증가되지 않았다(그림 5).

시상하부가쪽구역에서 콜레시스토키닌 단독투여군 (78±17 cells/section)이나 렙틴 단독투여군 (88±30 cells/section)은 대조군 (59±10 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포의 수가 증가되었다. 병합투여군 (99±32 cells/section)은 콜레시스토키닌 단독투여군과 렙틴 단독투여군 모두에 비해서 통계학적으로 증가되지 않았다(그림 6).

팔곁핵의 바깥가쪽부위에서는 시상하부가쪽구역과 마찬가지로 콜레시스토키닌 단독 (81±27 cells/section) 혹은 렙틴 단독 (85±25 cells/section) 투여시에 대조군 (45±11 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포 수가 증가되었다. 병합투여군 (97±30 cells/section)은 콜레시스토키닌 단독투여군과 렙틴 단독투여군 모두에 비해서 Fos 발현이 증가되지 않았다(그림 6).

무릎위핵에서 콜레시스토키닌 단독투여군 (61±22 cells/section)은 대조군 (53±12 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포 수가 증가되지 않았으나 렙틴 단독투여

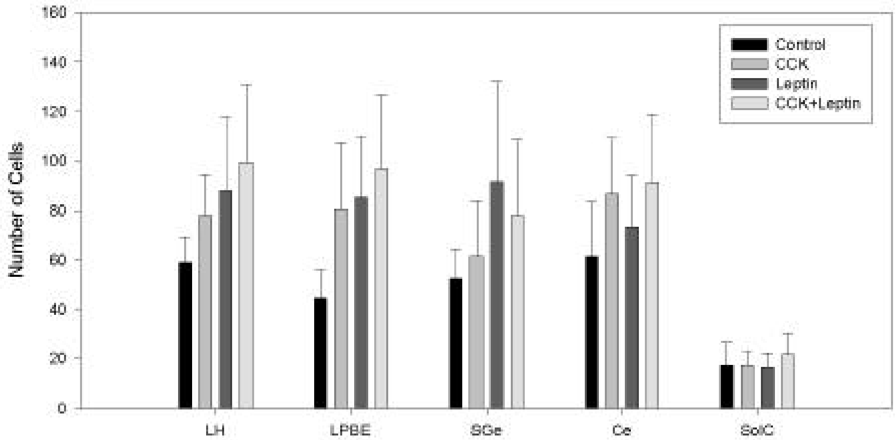

그림 6. 렙틴과 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 병합투여군에서 Fos 발현이 통계학적으로 증가하지 않은 부위(II). 시상하부가쪽구역 (LH), 팔결핵의 바깥가쪽부위 (LPBE), 무릎위핵 (SGe), 편도체의 중심핵 (Ce), 고립로핵의 맞교차부위 (SolC)에서는 병합투여군이 단독투여군에 비해 Fos 발현이 유의한 차이를 보이지 않았다.

군 (91±41 cells/section)은 대조군에 비해 증가하였다. 병합투여군 (78±30 cells/section)은 렙틴 단독투여군이나 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 Fos 발현 세포수가 증가하지 않았다(그림 6).

편도체의 중심핵에서 콜레시스토키닌 단독투여군 (87±23 cells/section)은 대조군 (61±22 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포 수가 증가하였고 렙틴 단독투여군 (73±21 cells/section)은 대조군에 비해 증가하지 않았다. 병합투여군 (91±27 cells/section)은 렙틴 투여군과 콜레시스토키닌 투여군에 비해 Fos 발현 세포 수가 증가되지 않았다(그림 6).

고립로핵의 맞교차부위에서 콜레시스토키닌 단독투여군 (17±6 cells/section)이나 렙틴 단독투여군 (17±6 cells/section)은 대조군 (17±9 cells/section)에 비해 Fos 발현 세포 수가 증가하지 않았고 병합투여 (22±8 cells/section)시에도 렙틴

단독투여군과 콜레시스토키닌 단독투여군에 비해 Fos 발현이 증가되지 않았다(그림 6).

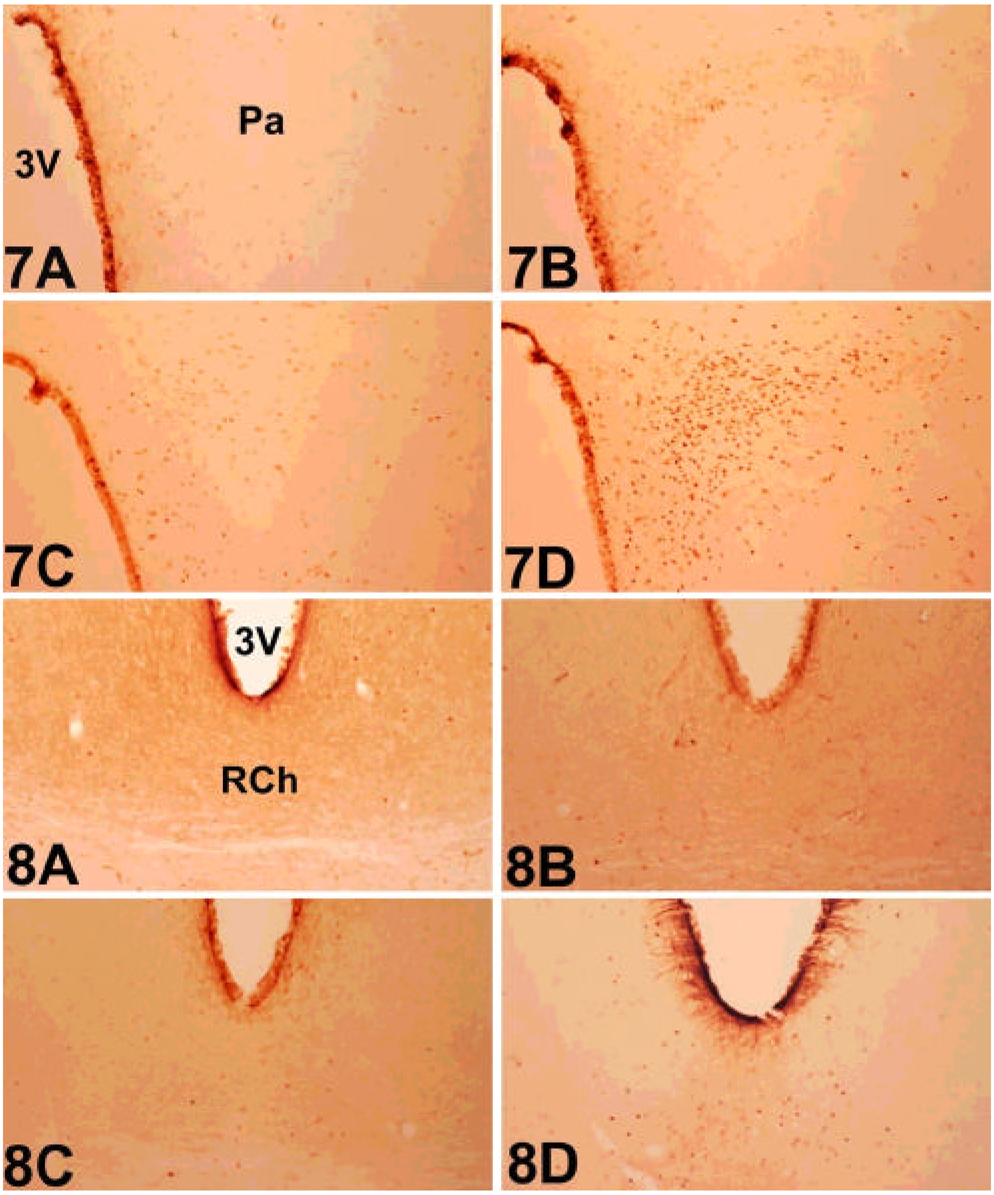

그림 7, 8. 뇌실결핵(그림 7)과 시각교차뒤구역(그림 8)에서 Fos의 발현 대조군(A), 콜레시스토키닌 투여군(B), 렙틴 투여군(C), 콜레시스토키닌과 렙틴 병합투여군(D)에서 Fos의 발현정도를 비교한 사진이다(×100). 콜레시스토키닌과 렙틴 병합투여군(D)이 콜레시스토키닌(B) 혹은 렙틴(C) 단독투여군에 비해 Fos발현이 증가된 소견을 보이고 있다.

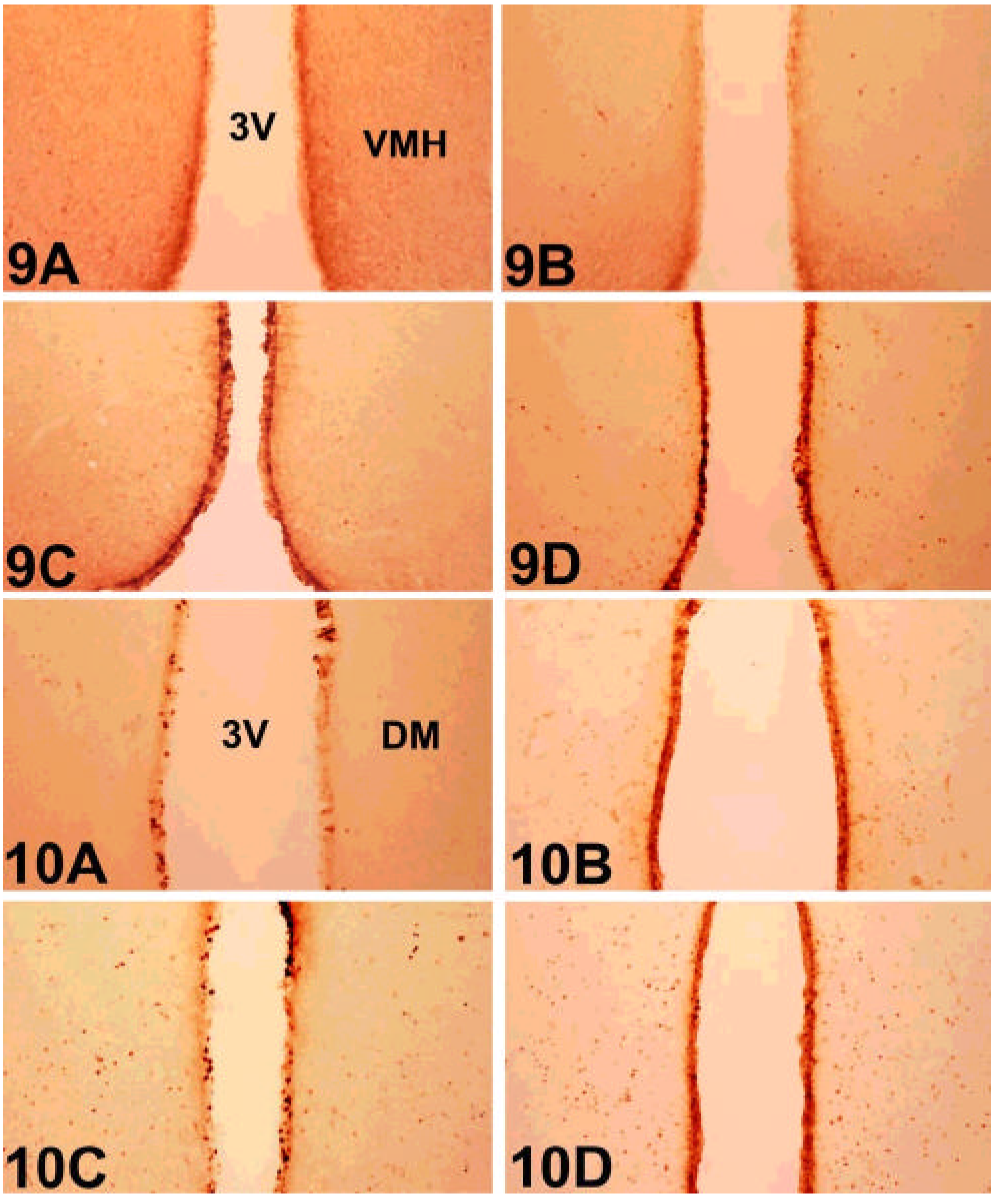

그림 9, 10. 배쪽안쪽시상하부핵(그림 9)과 등쪽안쪽시상하부핵(그림 10)에서 Fos의 발현 대조군(A), 콜레시스토키닌 투여군(B), 렙틴 투여군(C), 콜레시스토키닌과 렙틴 병합투여군(D)에서 Fos의 발현정도를 비교한 사진이다(×100). 콜레시스토키닌과 렙틴 병합투여군(D)이 콜레시스토키닌(B) 혹은 렙틴(C) 단독투여군에 비해 Fos발현이 증가된 소견을 보이고 있다.

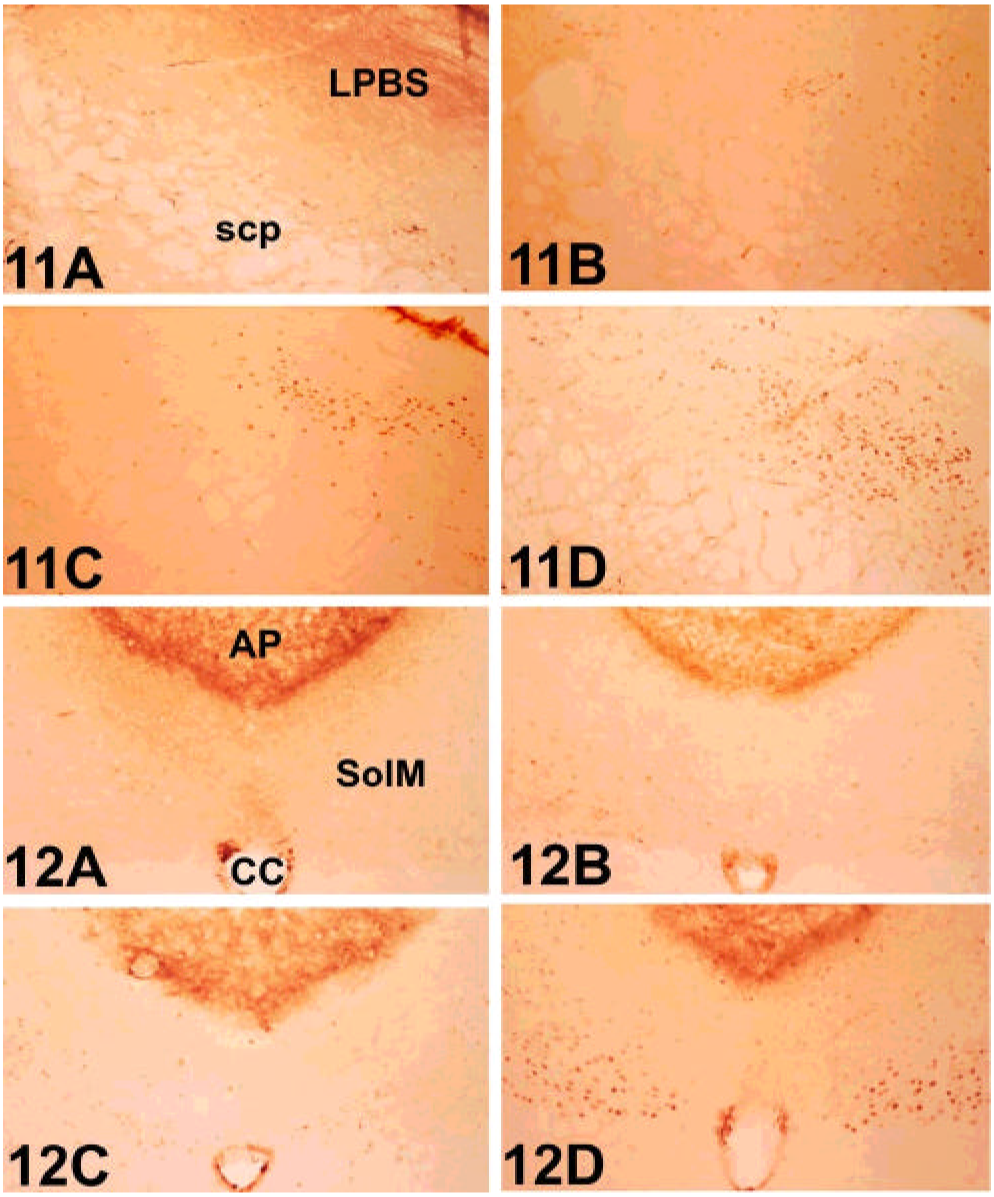

그림 11, 12. 팔결핵의 위쪽가쪽부위(그림 11)와 고립로핵의 안쪽부위(그림 12)에서 Fos의 발현. 대조군(A), 콜레시스토키닌 투여군(B), 렙틴 투여군(C), 콜레시스토키닌과 렙틴 병합투여군(D)에서 Fos의 발현정도를 비교한 사진이다(×100). 콜레시스토키닌과 렙틴 병합투여군(D)이 콜레시스토키닌(B) 혹은 렙틴(C) 단독투여군에 비해 Fos발현이 증가된 소견을 보이고 있다.

Ⅳ. 고찰

정맥내로 렙틴 1 mg/kg, 5 mg/kg을 투여한 후 Fos 발현 정도를 비교한 논문에서는 각 군 사이에 없는 것으로 보고되어 있다(Elias등, 2000). 본 연구에서는 뇌실로 렙틴 1.5 ㎍, 3 ㎍, 10 ㎍ 투여후 Fos 발현정도를 비교하였고 결과는 정맥내 투여와 마찬가지로 렙틴 투여 용량에 따라 Fos 발현 정도에 차이가 없었다. 유의하게 몸무게와 식욕을 감소시키는 뇌실내 렙틴 투여 용량은 1.5 ㎍부터 라고 알려져 있다(Cusin등, 1996). 또한 뇌실로 렙틴을 투여하고 복강으로 콜레시스토키닌을 투여한 후 식욕감소 혹은 몸무게 감소에 병합효과를 나타내는 렙틴 용량은 2 ㎍에서 5 ㎍ 사이라고 보고되어 있다(Emond등, 1999; Matson등, 1999; Matson 및 Ritter, 2000). 본 연구결과 뇌실로 투여하는 렙틴의 용량에 따른 Fos의 발현에는 큰 차이가 없었기 때문에 렙틴과 콜레시스토키닌 투여 후 식욕감소나 몸무게 감소에 병합효과를 나타낸다고 알려진 렙틴 용량을 참고하여 3 ㎍을 선택하여 뇌실로 투여하였다.

최근 콜레시스토키닌과 렙틴은 장기간의 식욕 감소와 체중 감소(Matson등, 1997; Matson등, 1999; Matson 및 Ritter, 2000) 및 단기간의 식욕 감소(Barrachina등, 1997; Emond등, 1999)에 서로 병합효과가 있다고 보고되고 있다. Matson등(2000)은 말초에 있는 콜레시스토키닌 A 수용체에 작용하는 콜레시스토키닌이 렙틴의 작용을 도와 체중감소와 장기간의 식욕감소를 유발한다고 보고하였다. 한편 Barrachina등(1997)과 Emond등(1999)은 뇌실이나 복강에 투여한 렙틴이 콜레시스토키닌의 작용을 도와 단기간의 식욕감소를 촉진한다고 보고하였다. 이런 병합효과에 대한 기전은 아직 명확히 알려져 있지 않으나 병합효과를 유발하는 부위를 찾기 위한 연구가 Fos 단백질을 이용해 시도된 바 있다.

Wang등(1998)은 3.5 ㎍/kg의 콜레시스토키닌과 120 ㎍/kg의 렙틴을 복강에 병합 투여하여 단독투여시보다 뇌실옆핵에서 Fos 발현이 증가됨을 보였고, Emond등(1999)은 3.5 ㎍의 렙틴을 뇌실로 1 ng/kg의 콜레시스토키닌을 복강으로 투여하면 맨아래구역, 고립로핵의 안쪽부위와 꼬리쪽부위, 뇌실곁핵에서 단독투여시보다

Fos의 발현이 증가됨을 보여 이 부위들이 콜레시스토키닌과 렙틴 병합 투여시의 식욕억제 상승효과와 관련된 부위일 가능성을 제시하였다. 콜레시스토키닌 혹은 렙틴의 단독투여시와 비교하여 병합투여시에 통계학적으로 의의있게 Fos 발현이 증가되는 부위는 알려져 있으나, 본 연구에서 시각교차뒤구역, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위를 추가로 확인하였다.

최근 Broberger등(1998)은 활꼴핵에 neuropeptide Y(NPY)와 Agouti gene-related protein을 함유하는 신경세포에서 팔곁핵으로 신경섬유가 뻗어나가는 것을 밝히고 콜레시스토키닌의 단기간 포만신호가 도달하는 고립로핵에서 팔곁핵으로 많은 신경섬유가 지나간다는 사실 (Herbert등, 1990)을 들어 팔곁핵이 단기간, 장기간의 섭식신호가 통합되는 부위가 될 수 있음을 시사하였다. 렙틴은 활꼴핵의 NPY, Agouti gene -related protein, proopiomelanocortin(POMC), cocaine and amphetamine -regulated transcript(CART)를 함유하는 신경세포에 위치한 렙틴 수용체에 작용하여 이들 물질들을 통해 작용을 나타내는 것으로 알려져 있기 때문에(Mercer등, 1996a; Cheung등, 1997; Schwartz등, 1997; Flier 및 Maratos-Flier 1998; Friedman 및 Halaas, 1998; Elmquist등, 1999; Ahima등, 2000) 렙틴이 활꼴핵의 neuropeptide Y(NPY)와 아구티 유전자 관련 단백질(Agouti gene-related protein)을 함유하는 신경세포에 작용한 후 팔곁핵으로 뻗어나가는 신경섬유를 통해 팔곁핵에 작용한다고 생각할 수 있다. 또한 렙틴 투여시 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위에 Fos 발현이 되는 것으로 보아(Elias등, 2000) 팔곁핵이 렙틴의 작용부위임을 알 수 있다. 한편 콜레시스토키닌도 포만정보를 미주신경을 통해 전달하게 되는데 미주신경은 고립로핵에서 신경연접을 이루고 고립로핵에서는 팔곁핵으로 많은 분지를 낸다(Herbert등, 1990). 이런 연구결과들을 토대로 팔곁핵이 렙틴과 콜레시스토키닌의 작용이 통합되는 부위가 될 수 있다는 가설을 세울 수 있다. 본 연구 결과에서도 렙틴과 콜레시스토키닌을 병합투여시 단독투여시에 비해 팔곁핵의 위쪽가쪽부위에서 Fos발현이 통계적으로 유의하게 증가하여 위 가설을 지지하고 있다. 특히 팔곁핵의 위쪽가쪽부위는 식욕의 자율조절(autonomic regulation) 역할을 하는 것으로 알려진 콜레시스토키닌 전령유전자(preprocholecystokinin mRNA)를 가장 많이 함유하는 것으로 알려져

있고 이 곳에서 몸무게와 식욕조절 중추의 하나인 배쪽안쪽시상하부핵과 등쪽안쪽시상하부핵으로 신경섬유를 내는 것으로 알려져 있다(Inagaki등, 1984; Zaborszky등, 1984; Fulwiler 및 Saper, 1985; Bester등, 1997). 앞으로 렙틴 투여에 의해 Fos가 발현된 세포와 콜레시스토키닌 투여에 의해 Fos가 발현된 세포가 서로 일치하는지와 렙틴과 콜레시스토키닌 병합투여에 의해 유도된 팔곁핵의 위쪽가쪽부위의 Fos 발현 세포가 콜레시스토키닌 전령유전자를 함유하는지 등의 세포 특징을 밝히는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

배쪽안쪽시상하부핵과 등쪽안쪽시상하부핵은 렙틴수용체를 가지고 있고(Mercer등, 1996b; Fei등, 1997; Elmquist등, 1998b) 렙틴 투여시 Fos가 발현되어(Canteras등, 1994; Elmquist등, 1997; Elias등, 2000) 렙틴의 작용부위로 알려져 있다. 앞에서 언급한 바와 같이 팔곁핵의 위쪽가쪽부위에 존재하는 콜레시스토키닌 전령유전자(preprocholecystokinin mRNA) 함유 신경세포는 배쪽안쪽시상하부핵과 등쪽안쪽시상하부핵으로 신경섬유를 내는 것으로 알려져 있어(Inagaki등, 1984; Zaborszky등, 1984; Fulwiler 및 Saper 1985; Bester등, 1997) 배쪽안쪽시상하부핵과 등쪽안쪽시상하부핵이 렙틴과 콜레시스토키닌의 병합효과 작용부위라고 가설을 세울 수 있다. 본 연구는 렙틴과 콜레시스토키닌을 병합투여시 단독투여시에 비해 통계학적으로 Fos 발현이 증가됨을 보여 배쪽안쪽시상하부핵과 등쪽안쪽사상하부핵이 렙틴과 콜레시스토키닌의 작용이 통합되는 부위가 될 수 있음을 시사한다.

시각교차뒤구역은 해부학적으로 활꼴핵에 인접되어 있는 부위로 렙틴 투여시 Fos 발현이 되는 부위이고 렙틴의 수용체가 발견되어(Elias 등, 2000) 렙틴의 작용부위로 알려져 있다. 본 연구에서 콜레시스토키닌 투여 후 시각교차뒤구역에서 Fos 발현 세포가 증가됨을 발견하여 시각교차뒤구역이 콜레시스토키닌의 가능한 작용부위임을 알 수 있었다. 본 연구에서는 렙틴과 콜레시스토키닌을 병합투여시 단독투여시에 비해 통계학적으로 시각교차뒤구역에서 Fos발현이 증가됨을 보여 시각교차뒤구역이 렙틴과 콜레시스토키닌의 작용이 통합되는 부위임을 보였다.

고립로핵의 안쪽부위에서 콜레시스토키닌 단독투여시나 렙틴 단독투여시에 비해 병합투여군에서 Fos 발현이 증가한 현상은 Emond등(1999)의 결과와 일치한다.

고립로핵의 안쪽부위에는 미미하지만 렙틴의 수용체가 존재하고 렙틴 투여후 Fos가 발현되는 부위로 렙틴의 작용부위임이 알려져 있고(Elias 등, 2000) 콜레시스토키닌의 포만정보를 전달하는 미주신경이 도달하는 부위라는 사실(Raybould등, 1988)은 고립로핵이 렙틴과 콜레시스토키닌의 작용이 통합되는 부위가 될 수 있음을 지지한다.

뇌실곁핵에서 콜레시스토키닌 단독투여시나 렙틴 단독투여시에 비해 병합투여군에서 Fos 발현 세포 수가 증가한 현상은 Wang등(1998)과 Emond등(1999)의 결과와 일치한다. 뇌실곁핵은 손상이 생기면 섭식항진을 일으켜 비만을 유도함으로(Gold, 1973) 섭식을 조절하는 부위로 알려져 있다. 뇌실곁핵에는 렙틴의 수용체가 존재하고(Elmquist등, 1998b) 렙틴에 의해 Fos 발현이 되고(Woods 및 Stock 1996; Elmquist등, 1997; Elias등, 2000) 렙틴 투여 후 활꼴핵과 등쪽안쪽시상하부핵에서 뇌실곁핵으로 가는 신경섬유가 활성되는 것으로 보아(Elmquist등, 1998a) 뇌실곁핵은 렙틴의 작용을 매개하는 부위임을 알 수 있다. 또한 뇌실곁핵은 콜레시스토키닌 투여 후 Fos가 발현되는 부위의 하나로 알려져 있고(Verbalis등, 1991) 콜레시스토키닌의 포만정보를 전달하는 미주신경은 고립로핵에 도달한 후 바로 혹은 팔곁핵을 통해 뇌실곁핵에 작용한다고 알려져 있어(Ricardo 및 Koh, 1978; Ter Horst등, 1989; Buller 및 Day, 1996; Rinaman등, 1995) 뇌실곁핵이 콜레시스토키닌의 한 작용부위임을 추측할 수 있다. 이와 같이 렙틴과 콜레시스토키닌이 뇌실곁핵에 작용한다는 사실은 뇌실곁핵이 렙틴과 콜레시스토키닌 병합효과의 한 부분일 수 있음을 시사한다.

본 연구결과 중 콜레시스토키닌 투여 후 통계학적으로 Fos 발현이 증가되는 부위는 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위와 고립로핵의 안쪽부위이었다. 이전 연구에서는 콜레시스토키닌 투여후 뇌실곁핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 팔곁핵의 바깥가쪽, 맨아래구역에서 Fos 단백질의 발현이 증가된다고 보고하였다(Luckman, 1992; Chen등, 1993; Day등, 1994; Li 및 Rowland, 1994). 저자의 결과를 이전 연구들과 비교해 볼 때 고립로핵의 안쪽부위, 뇌실옆핵, 등쪽안쪽시상하부

핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 팔곁핵의 바깥가쪽부위에서 Fos 단백질이 발현되는 것은 이전 연구와 일치된 결과이다. 그러나 다른 연구에서 Fos 단백질 발현을 보인 맨아래구역과 고립로핵의 맞교차구역은 Fos 단백질 발현 세포의 수가 증가하는 경향을 보였으나 통계학적으로 의의가 없었다. 이 같은 결과는 본 연구에서 투여한 콜레시스토키닌의 용량이 이전 연구에서 사용한 용량에 비해 적기 때문으로 생각된다. 맨아래구역과 고립로핵의 맞교차구역에서 Fos 단백질의 발현을 증가시키는 콜레시스토키닌의 역치용량은 2 ㎍/kg이기 때문에(Zittel등, 1999) Fos 단백질 발현이 증가되기는 하였으나 통계학적으로는 의의가 없었던 것으로 생각한다. 본 연구에서 콜레시스토키닌 투여 용량을 2 ㎍/kg으로 사용한 이유는 소량의 콜레시스토키닌 용량이 구역질과 같은 부작용 없이 선택적으로 섭식만 억제시키는 생리학적 용량에 가깝기 때문이다(Linden 및 Sodersten 1990). 본 연구에서는 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 가쪽시상하부핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위에서 Fos 단백질 발현이 되었으나 콜레시스토키닌 3.5 ㎍/kg을 복강내 투여후 활꼴핵에서 Fos 단백질이 발현되지 않은 연구결과(Wang 등, 1998)가 있고 콜레시스토키닌 5 ㎍/kg을 복강내 투여후 배쪽안쪽시상하부핵, 가쪽시상하부핵와 팔곁핵의 위쪽가쪽부위에서 Fos 단백질 발현 세포의 증가가 관찰되지 않았던 연구결과(Li 및 Rowland, 1994)도 있다. 콜레시스토키닌 투여후 시각교차뒤구역, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 가쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위에서 Fos 단백질이 발현된 것은 새로운 발견이다. 콜레시스토키닌은 미주들신경 경로(vagal afferent pathway)를 통해 식욕 억제 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Smith등, 1985; Raybould등, 1988; South 및 Ritter, 1988; Schwartz등, 1993). 미주들신경 경로는 고립로핵에 도달하고 고립로핵에서는 많은 분지를 보내게 된다(Norgren, 1978; Kapp등, 1989; Herbert등, 1990). 많은 분지중 팔곁핵으로 가는 것이 가장 큰 분지로 알려져 있다(Herbert등, 1990). 고립로핵에서는 전뇌(forebrain)로 가는 분지가 적으나 팔곁핵에서는 시각교차뒤구역, 뇌실곁핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 가쪽시상하부핵, 편도체의 중심핵 등으로 많은 분지를 보낸다(Ricardo 및 Koh, 1978; Ter Horst등, 1989; Paxinos, 1995). 본 연구에서 콜레시스토키닌 투여 후 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상

하부핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위, 고립로핵의 안쪽부위에서 Fos 단백질이 증가된 것은 콜레시스토키닌의 포만효과 정보를 전달하는 미주들신경 회로의 분지부위와 일치한다. 본 연구의 결과를 통해 콜레시스토키닌의 포만효과 정보는 미주들신경회로를 통해 고립로핵에 도달하고 고립로핵에서 팔곁핵으로 전달되고 팔곁핵에서 시상하부에 위치한 시각교차뒤구역, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 뇌실곁핵, 가쪽시상하부핵와 변연계에 위치한 편도체의 중심핵으로 전달된다고 가설을 세울 수 있다.

본 연구에서는 콜레시스토키닌 단독 투여군이나 렙틴 단독투여군에 비해 병합투여군에서 Fos발현이 통계학적으로 증가된 부분은 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위, 고립로핵의 안쪽부위이며 이 부위들이 렙틴과 콜레시스토키닌의 식욕억제 상승작용 부위가 될 수 있음을 보여주었다. 그러나 이러한 부위가 렙틴과 콜레시스토키닌의 식욕억제 상승작용 부위라고 명확히 증명하기 위해서는 콜레시스토키닌 투여 후 Fos 발현된 세포와 렙틴 투여 후 Fos 발현된 세포가 같은 세포인지가 규명이 필요하다. 이를 위해서 콜레시스토키닌 투여시에 Fos 양성 세포에 존재하는 물질이 렙틴 단독투여 혹은 병합투여시에 Fos 양성 세포에서도 발견되는지를 이중면역염색 방법 등을 통해 밝혀야 할 것이다.

V. 결론

본 연구에서 렙틴을 뇌실로 투여후 Fos 발현이 증가된 부분은 뇌실결핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위, 무릎위핵, 맨아래구역, 고립로핵의 안쪽부위였고 렙틴 투여 용량(1.5 ㎍, 3 ㎍, 10 ㎍)에 따라 Fos 발현부위나 정도에 차이가 없었다.

본 연구에서 콜레시스토키닌 투여후 뇌실결핵, 시각교차뒤구역, 가쪽시상하부핵, 편도체의 중심핵, 시각로위핵, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 배쪽유두체앞핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위와 바깥가쪽부위, 고립로핵의 안쪽부위에서 Fos 단백질 발현이 증가되었다. 이러한 부위는 콜레시스토키닌의 포만 효과 정보를 전달하는 미주들신경 경로의 분지부위와 일치한다. 본 연구의 결과를 통해 콜레시스토키닌의 포만효과 정보는 미주들신경 경로를 통해 고립로핵에 도달하고 고립로핵에서 팔곁핵으로 팔곁핵에서 시상하부에 위치한 시각교차뒤구역, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 뇌실곁핵, 가쪽시상하부핵, 시각로위핵과 변연계에 위치한 편도체의 중심핵으로 전달되는 것으로 생각된다.

본 연구에서 콜레시스토키닌과 렙틴을 병합투여시 각각의 단독투여시 보다 뇌실곁핵, 시각교차뒤구역, 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 팔곁핵의 위쪽가쪽부위, 고립로핵의 안쪽부위에서 Fos 발현이 통계학적으로 의의있게 증가됨으로 이 부위들이 식욕조절에 있어 렙틴과 콜레시스토키닌의 상승작용을 매개하는 부위임을 시사한다.

참고문헌

Ahima RS, Saper CB, Flier JS, Elmquist JK: Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol 21: 263-307, 2000*

Antin J, Gibbs J, Holt J, Young RC, Smith GP: Cholecystokinin elicits the complete behavioral sequence of satiety in rats *J Comp Physiol Psychol 89: 784-790, 1975*

Barrachina MD, Martinez V, Wang L, Wei JY, Tache Y: Synergistic interaction between leptin and cholecystokinin to reduce short-term food intake in lean mice. *Proc Natl Acad Sci USA 94: 10455-10460, 1997*

Bester H, Besson JM, Bernard JF: Organization of efferent projections from the parabrachial area to the hypothalamus: a Phaseolus vulgaris -leucoagglutinin study in the rat. *J Comp Neurol 383: 245-281, 1997*

Broberger C, Johansen J, Johansson C, Schalling M, Hokfelt T: The neuropeptide Y/agouti gene-related protein (AGRP) brain circuitry in normal, anorectic, and monosodium glutamate-treated mice. *Proc Natl Acad Sci USA 95: 15043-15048, 1998*

Buller KM, Day TA: Involvement of medullary catecholamine cells in neuroendocrine responses to systemic cholecystokinin. *J Neuroenolcrinol 8: 819-824, 1996*

Canteras NS, Simerly RB, Swanson LW: Organization of projections from the ventromedial nucleus of the hypothalamus: a Phaseolus vulgaris -leucoagglutinin study in the rat. *J Comp Neurol 348: 41-79, 1994*

Chen DY, Deutsch JA, Gonzalez MF, Gu Y: The induction and suppression of c-fos expression in the rat brain by cholecystokinin and its antagonist L364,718. *Neurosci Lett 149: 91-94, 1993*

Cheung CC, Clifton DK, Steiner RA: Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology 138: 4489-4492, 1997*

Coleman DL: Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia 14: 141-148, 1978*

Crawley JN, Kiss JZ, Mezey E: Bilateral midbrain transections block the behavioral effects of cholecystokinin on feeding and exploration in rats. *Brain Res 322: 316-321, 1984*

Crawley JN, Schwaber JS: Abolition of the behavioral effects of cholecystokinin following bilateral radiofrequency lesions of the parvocellular subdivision of the nucleus tractus solitarius. *Brain Res 295: 289-299, 1984*

Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F, Stricker-Krongrad A, Jeanrenaud B: The weight-reducing effect of an intracerebroventricular bolus injection of leptin in genetically obese fa/fa rats. Reduced sensitivity compared with lean animals. *Diabetes 45: 1446-1450, 1996*

Day HE, McKnight AT, Poat JA, Hughes J: Evidence that cholecystokinin induces immediate early gene expression in the brainstem, hypothalamus and amygdala of the rat by a CCKA receptor mechanism. *Neuropharmacology 33: 719-727, 1994*

Dragunow M, Faull R: The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J Neurosci Methods 29: 261-265, 1989*

Elias CF, Kelly JF, Lee CE, Ahima RS, Drucker DJ, Saper CB, Elmquist JK: Chemical characterization of leptin-activated neurons in the rat brain. *J Comp Neurol 423: 261-281, 2000*

Elmquist JK, Ahima RS, Maratos-Flier E, Flier JS, Saper CB: Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Endocrinology 138: 839-842, 1997*

Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB: Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc Natl Acad Sci USA 95: 741-746, 1998a*

Elmquist JK, Bjorbaek C, Ahima RS, Flier JS, Saper CB: Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J Comp Neurol 395: 535-547, 1998b*

Elmquist JK, Elias CF, Saper CB: From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron 22: 221-232, 1999*

Emond M, Schwartz GJ, Ladenheim EE, Moran TH: Central leptin modulates behavioral and neural responsivity to CCK. *Am J Physiol 276: R1545-R1549, 1999*

Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R, Friedman JM: Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proc Natl Acad Sci USA 94: 7001-7005, 1997*

Flier JS, Maratos-Flier E: Obesity and the hypothalamus: novel peptides for new pathways. *Cell 92: 437-440, 1998*

Friedman JM, Halaas JL: Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature 395: 763-770, 1998*

Fulwiler CE, Saper CB: Cholecystokinin-immunoreactive innervation of the ventromedial hypothalamus in the rat: possible substrate for autonomic regulation of feeding. *Neurosci Lett 53: 289-296, 1985*

Gibbs J, Young RC, Smith GP: Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol 84: 488-495, 1973*

Gold RM: Hypothalamic obesity: the myth of the ventromedial nucleus. *Science 182: 488-490, 1973*

Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM: Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science 269: 543-546, 1995*

Herbert H, Moga MM, Saper CB: Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. *J Comp Neurol 293: 540-580, 1990*

Hoffman GE, Smith MS, Verbalis JG: c-Fos and related immediate early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol 14: 173-213, 1993*

Inagaki S, Shiotani Y, Yamano M, Shiosaka S, Takagi H, Tateishi K, Hashimura E, Hamaoka T, Tohyama M: Distribution, origin, and fine structures of cholecystokinin-8-like immunoreactive terminals in the nucleus ventromedialis hypothalami of the rat. *J Neurosci 4: 1289-1299, 1984*

Kapp BS, Markgraf CG, Schwaber JS, Bilyk-Spafford T: The organization of dorsal medullary projections to the central amygdaloid nucleus and parabrachial nuclei in the rabbit. *Neuroscience 30: 717-732, 1989*

Li BH, Rowland NE: Cholecystokinin and dexfenfluramine-induced anorexia compared using devazepide and c-fos expression in the rat brain. *Regul Peptides 50: 223-233, 1994*

Linden A, Sodersten P: Relationship between the concentration of cholecystokinin-like immunoreactivity in plasma and food intake in male rats. *Physiol Behav 48: 859-863, 1990*

Luckman SM: Fos-like immunoreactivity in the brainstem of the rat following peripheral administration of cholecystokinin. *J Neuroendocrinol 4: 149-152, 1992*

Matson CA, Wiater MF, Kuijper JL, Weigle DS: Synergy between leptin and cholecystokinin(CCK) to control daily caloric intake. *Peptides 18: 1275-1278, 1997*

Matson CA, Ritter RC: Long-term CCK-leptin synergy suggests a role for CCK in the regulation of body weight. *Am J Physiol 276: R1038-1045, 1999*

Matson CA, Reid DF, Cannon TA, Ritter RC: Cholecystokinin and leptin act synergistically to reduce body weight. *Am J Physiol 278: R882-R890, 2000*

Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, Lawrence CB, Hannah LT, Morgan PJ, Trayhurn P: Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *J Neuroendocrin 8: 733-735, 1996a*

Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, Lawrence CB, Hannah LT, Trayhurn P: Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization. *FEBS Lett 387: 113-116, 1996b*

Mutt V, Jorpes E: Hormonal polypeptides of the upper intestine. *Biochem J 125: 57-58, 1971*

Niimi M, Sato M, Yokote R, Tada S, Takahara J: Effects of central and peripheral injection of leptin on food intake and on brain Fos expression in the otsuka long evans tokushima fatty rat with hyperleptinaemia. *J Neuroendocrinol 11: 605-611, 1999*

Norgren R: Projections from the nucleus of the solitary tract in the rat. *Neuroscience 3: 207-218, 1978*

Paxinos G: The rat nervous system. 2nd ed, Academic press, *pp107-116, 1995*

Paxinos G, Watson C: *The rat brain in stereotaxic coordinates.* 4th ed, Academic press, 1998

Paxinos G: *Chemoarchitectonic atlas of the rat brainstem.* Academic Press, *1999a*

Paxinos G: *Chemoarchitectonic atlas of the rat forebrain.* Academic press, *1999b*

Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F: Effects of the obese gene product on body regulation in ob/ob mice. *Science 269: 540-543, 1995*

Raybould HE, Gayton RJ, Dockray GJ: Mechanisms of action of peripherally administered cholecystokinin octapeptide on brainstem neurons in the rat. *J*

Neurosci 8: 3018-3124, 1988

Ricardo JA, Koh ET: Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Res 153: 1-26, 1978*

Rinaman L, Hoffman GE, Dohanics J, Le WW, Stricker EM, Verbalis JG: Cholecystokinin activates catecholaminergic neurons in the caudal medulla that innervate the paraventricular nucleus of the hypothalamus in rats. *J Comp Neurol 360: 246-256, 1995*

Schwartz GJ, McHugh PR, Moran TH: Gastric loads and cholecystokinin synergistically stimulate rat gastric vagal afferents. *Am J Physiol 265: R872-R876, 1993*

Schwartz MW, Seeley RJ, Woods SC, Weigle DS, Campfield LA, Burn P, Baskin DG: Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes 46: 2119-2123, 1997*

Smith GP, Jerome C, Norgrem R: Afferent axons in abdominal vagus mediate satiety effect of cholecystokinin in rats. *Am J Physiol 249: R638-R641, 1985*

South EH, Ritter RC: Capsaicin application to central or peripheral vagal fibers attenuates CCK satiety. *Peptides 9: 601-612, 1988*

Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Woolf EA, Monroe CA, Tepper RI: Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell 83:1263-1271, 1995*

Ter Horst GJ, de Boer P, Luiten PG, van Willigen JD: Ascending projections from the solitary tract nucleus to the hypothalamus: A *Phaseolus vulgaris* lectin tracing study in the rat. *Neuroscience 31: 785-797, 1989*

Van Dijk G, Thiele TE, Donahey JC, Campfield LA, Smith FJ, Burn P, Bernstein IL, Woods SC, Seely RJ: Central infusion of leptin and GLP-1-(7-36) amide differentially stimulate c-fos-like immunoreactivity in the rat brain. *Am J Physiol 271: R1096-R1100, 1996*

Vaisse C, Halaas JL, Horvath CM, Darnell JE, Stoffel M, Friedman JM: Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type an ob/ob mice but not db/db mice. *Nature Genet 14: 95-97, 1996*

Verbalis JG, Stricker EM, Robinson AG, Hoffman GE: Cholecystokinin activates c-fos expression in hypothalamic oxytocin and corticotrophin-releasing hormone neurons. *J Neuroendocrol 3: 205-213, 1991*

Wang L, Martínez V, Barrachina MD, Taché Y: Fos expression in the brain induced by peripheral injection of CCK or leptin plus CCK in fasted lean mice. *Brain Res 791: 157-166, 1998*

Woods AJ, Stock MJ: Leptin activation in hypothalamus. *Nature 381: 745, 1996*

Zaborszky L, Beinfeld MC, Palkovists M, Heimer L: Brainstem projection to the hypothalamic ventromedial nucleus in the rat: a CCK-containing long ascending pathway. *Brain Res 303: 225-231, 1984*

Zarbin MA, Wamsley JK, Innis RB, Kuhar MJ: Cholecystokinin receptors: presence and axonal flow in the rat vagus nerve. *Life Sci 29: 697-705, 1981*

Zhang Y, Pronenea R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman J: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature 372: 425-432, 1994*

Zittel TT, Glatzle J, Kreis ME, Starlinger M, Eichner M, Raybould HE, Becker HD, Jehle EC: C-fos protein expression in the nucleus of the solitary tract correlates with cholecystokinin dose injected and food intake in rats. *Brain Res 846: 1-11, 1999*

ABSTRACT

Fos expression induced by combined injection of leptin and cholecystokinin in the rat brain

Kim, Young Uck
Dept. of Medicine
The Graduate School
Yonsei University

Several studies reported that cholecystokinin(CCK), a short-term meal related satiety signal, and leptin, a long-term signal for controlling feeding behaviour and body weight, act synergistically to inhibit food intake. However, the mechanism and the neuroanatomic basis for this response remain unclear. To clarify the neuronal mechanisms underlying the synergistic interaction between leptin and CCK, we examined the neuron activated by a single or combined injection of leptin(3㎍) intracerebroventricularly(ICV), and CCK(2㎍/㎏) intraperitoneally(IP) in rats which fasted using immunohistochemistry for Fos. The expression of Fos has been used to trace neuronal activation pathways.

We focused on paraventricular nucleus(Pa), retrochiasmatic area(RCh), lateral hypothalamic nucleus(LH), central nucleus of amygdala(Ce), supraoptic nucleus(SO), arcuate nucleus(Arc), ventromedial hypothalamic nucleus(VMH), dorsomedial hypothalamic nucleus(DM), ventral premammillary nucleus(PMV), superior lateral subdivision of parabrachial nucleus(LPBS), external lateral subdivision of parabrachial nucleus(LPBE), supragenual nucleus(SGe), area postrema(AP), medial area(SolM) and commissural area(SolC) of nucleus of the solitary tract where leptin or CCK is known to induce Fos expression. Fos expression was investigated in the rat brain after three different doses of leptin (1.5μg, 3μg, 10μg). Administrating different doses of leptin made little significance in the relative numbers of neuron activated by leptin. Leptin increased the Fos expression in the Pa, RCh, LH, SO, Arc, VMH, DM, PMV, LPBS, LPBE, SGe, AP and SolM. CCK increased the Fos expression in the Pa, RCh, LH, Ce, SO, Arc, VMH, DM, PMV, LPBS, LPBE and SolM. These sites corresponded to the parts of visceral afferent pathways which send satiety signals of CCK.

From the result, we can hypothesize that CCK activates neurons in the nucleus of the solitary tract located on vagal afferent pathways which in turn stimulate neurons in the parabrachial nucleus. The satiety signal of CCK is then sent from the parbrachial nucleus to Pa, RCh, VMH, DM, LH, Arc and Ce. Combined injections of leptin and CCK enhanced Fos expression in the Pa, RCh, VMH, DM, LPBS, and SolM at a statistically significant level, compared with those induced by single injections of leptin or CCK. Our results suggest that Pa, RCh, VMH, DM, LPBS and SolM may be essential sites mediating the synergistic effect of leptin and CCK in regulating food intake efficiently.

Key words : leptin, cholecystokinin, Fos, synergistic effect, food intake