

Research paper

Recombinant bovine growth hormone (rBGH) enhances somatic growth by regulating the GH-IGF axis in fingerlings of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)



Emilio J. Vélez^a, Miquel Perelló^a, Sheida Azizi^a, Alberto Moya^a, Esmail Lutfi^a, Jaume Pérez-Sánchez^b, Josep A. Calduch-Giner^b, Isabel Navarro^a, Josefina Blasco^a, Jaume Fernández-Borràs^a, Encarnación Capilla^a, Joaquim Gutiérrez^{a,*}

^a *Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, 08028 Barcelona, Spain*

^b *Nutrigenomics and Fish Growth Endocrinology, Institute of Aquaculture Torre de la Sal (CSIC), 12595 Ribera de Cabanes, Castellón, Spain*

General and Comparative Endocrinology

影响因子: 2.564

内分泌学: 三区



S-TZM-TZOC

1 研究背景

2 研究目的和意义

3 材料和方法（技术路线）

4 实验结果及分析

5 体会与感悟、启发及感受



(一) 研究背景

GH/IGFs轴

A

生长激素(GH)/胰岛素样生长因子(IGFs)轴是脊椎动物和鱼类中调节生长的最重要的内分泌系统。GH和IGFs通过**结合相应的受体**(分别为GHR和IGF-IR)来调节机体组织、细胞的生长。

此外, IGFs可以激活肌肉、骨骼组织中的PI3K-AKT-TOR信号通路, 调控大量参与细胞的存活、增殖和分化**(如肌原调节因子(MRFs)、增殖细胞核抗原(PCNA)、肌生长抑素(MSTN)**等基因的表达。

（一）研究背景

金头鲷

B

在水产养殖中，金头鲷是最重要的养殖品种之一。很多学者已经通过**体内和体外两种方法**对其GH/IGFs轴进行了深入的研究。

体内的研究发现：生长激素GH可明显提高肝脏IGF- I和IGF- II的基因表达，并调节肝脏糖类和脂质代谢。

体外的结果亦表明：GH促进心肌细胞增殖的同时，IGF-1也维持在一个高的水平。

(一) 研究背景

重组牛生长激素

C

1990年代，Dalke等人发现，使用**重组牛生长激素缓释剂**处理肉牛，可使牛的采食量、产奶量、饲料效率和蛋白质沉积率升高，这一结果促使一些研究人员开始将rBGH应用到水产研究中，以促进鱼类的生长。



(二) 研究目的及意义

1997年, McLean等人研究发现, 将rBGH注射到鲑鱼体内后, 140天内它仍处在一个可检测的水平。然而, 到目前为止, 还没有关于rBGH在金头鲷体内长期释放的报道。

本研究的目的是为了分析注射rBGH对金头鲷生长、血浆IGF-I、GH/IGF轴、相关基因在肝脏、白肌和骨骼中的表达, 以及肌肉的组织学变化。

本研究的意义就在于可以进一步扩展对鱼类GH/IGFs轴及其对生长调节途径的知识, 以及我们究竟离金头鲷最大的生长(maximum growth)有多远。

(三) 材料和方法

实验前期准备

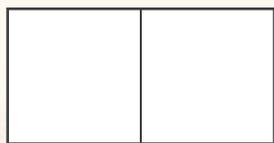
1

数量: 200尾
初体重: 1.01 ± 0.05 g
平均体长: 4.30 ± 0.02 cm



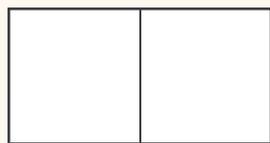
养殖条件: water
recirculation system
温度: 23 ± 1 °C
投饲率: 10% B.W./day
光照时间: 15 L:9D
投喂频率: five times a day

50尾



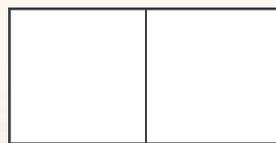
control group

50尾



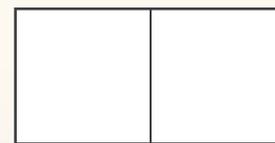
rBGH group

50尾



试验时间: 6 weeks

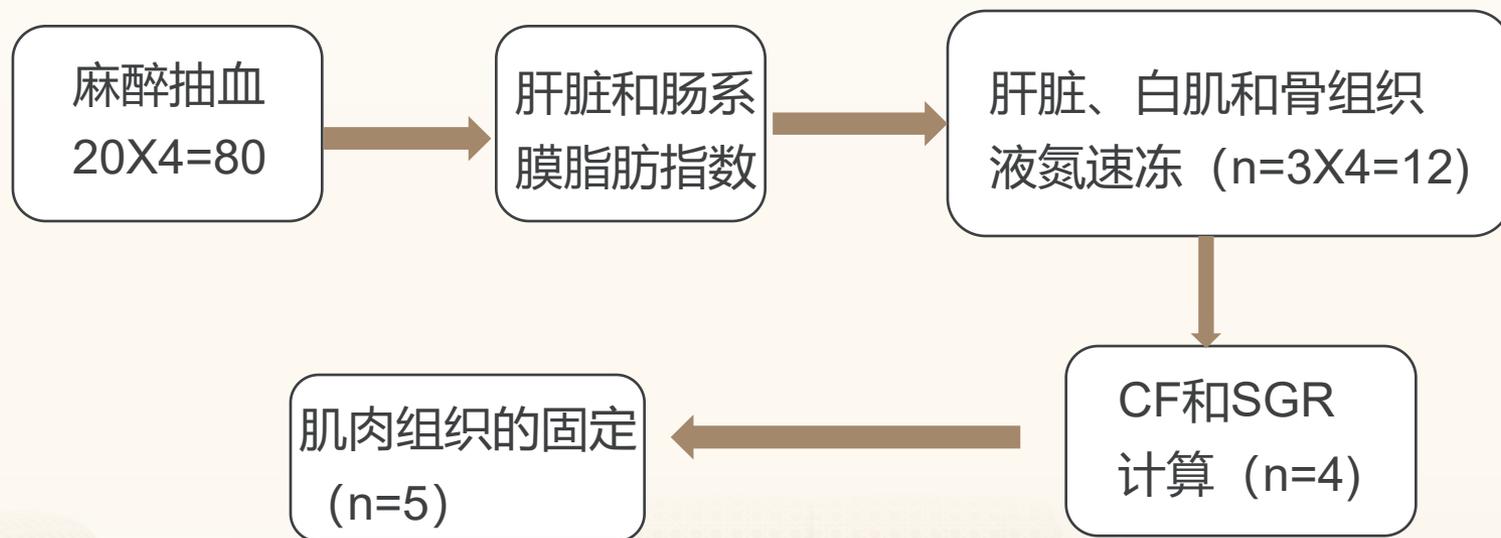
50尾



(三) 材料和方法

实验材料的收集

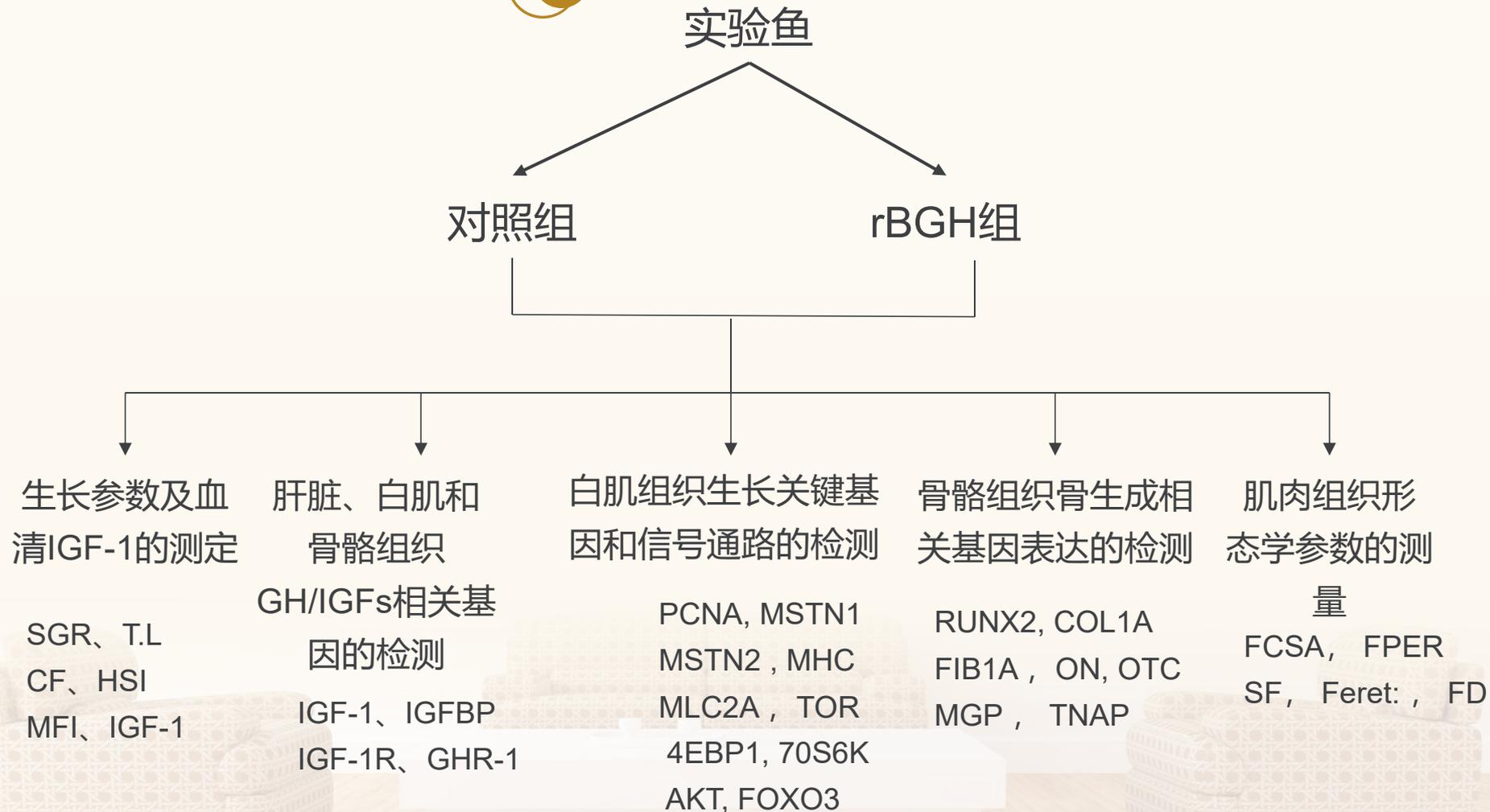
2



(三) 材料和方法

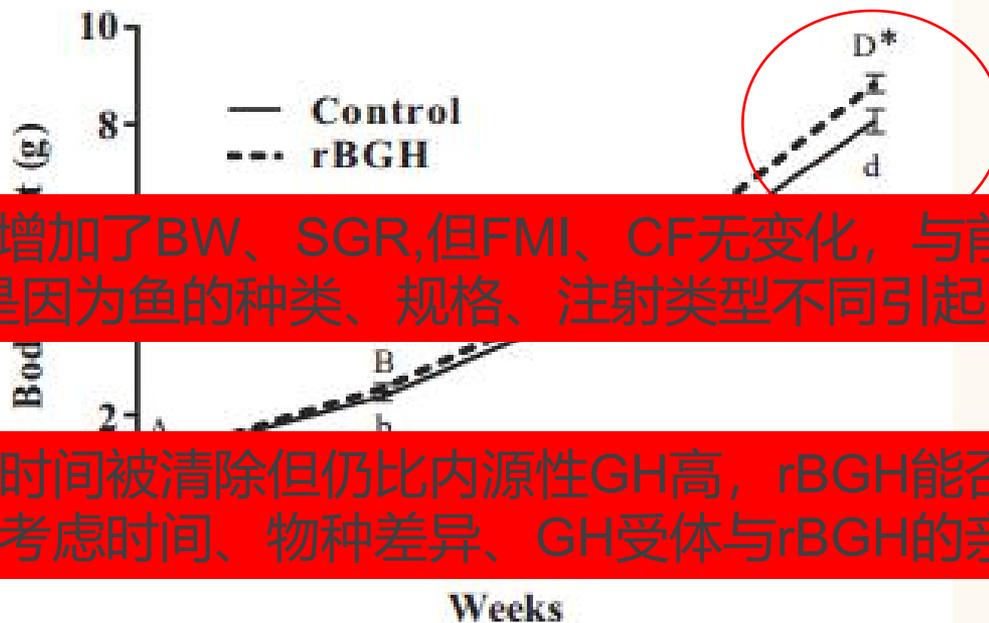
技术路线

3



(四) 结果与分析

1. Biometric and plasma parameters



1. rBGH显著增加了BW、SGR,但FMI、CF无变化,与前人结果不同,可能是因为鱼的种类、规格、注射类型不同引起的。

2. rBGH随着时间被清除但仍比内源性GH高, rBGH能否影响内源性GH还要考虑时间、物种差异、GH受体与rBGH的亲合力。

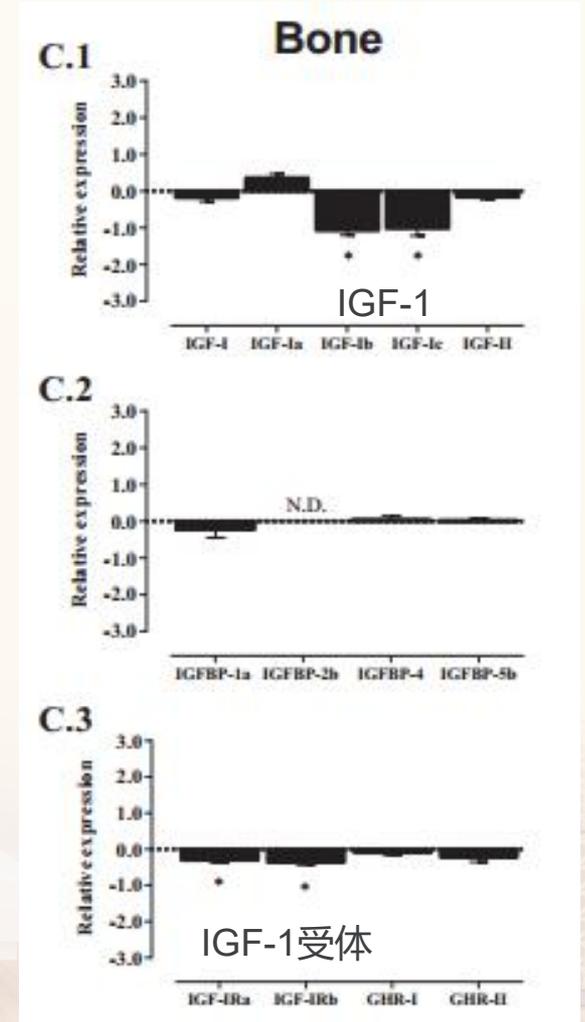
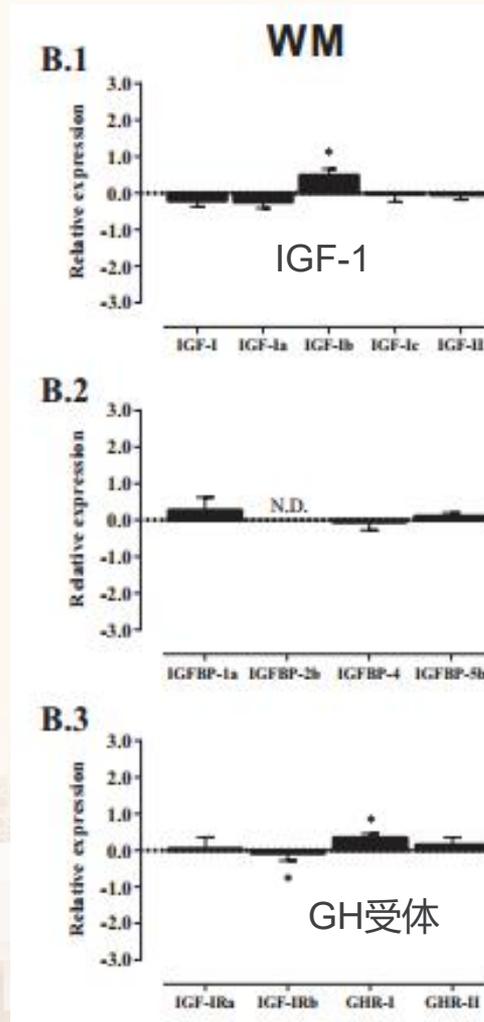
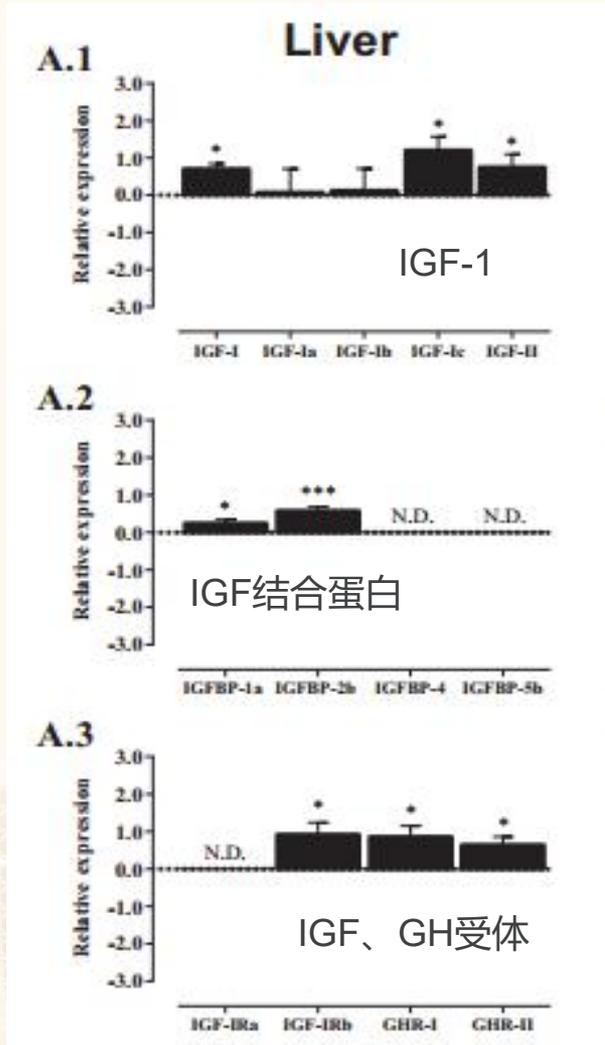
	SGR	T.L (cm)	CF	HSI	MFI	IGF-I (ng/mL)
Control	4.87 ± 0.08	8.06 ± 0.10	1.52 ± 0.01	1.56 ± 0.03	1.47 ± 0.07	64.37 ± 3.87
rBGH	5.80 ± 0.07*	8.31 ± 0.08	1.50 ± 0.01	1.42 ± 0.03***	1.32 ± 0.07	76.75 ± 4.44*

特定生长率

肝脏指数

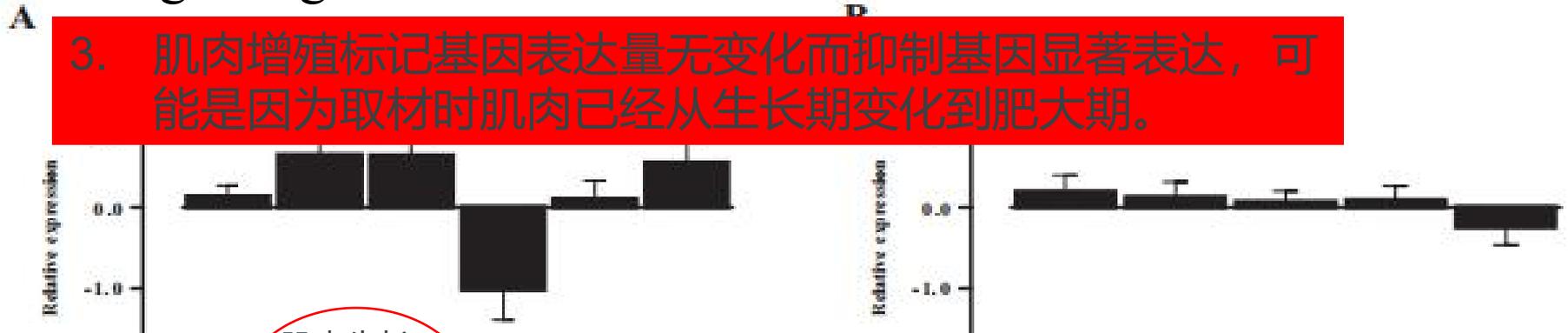
(四) 结果与分析

2. GH-IGFs axis gene expression in liver, white muscle and bone tissue

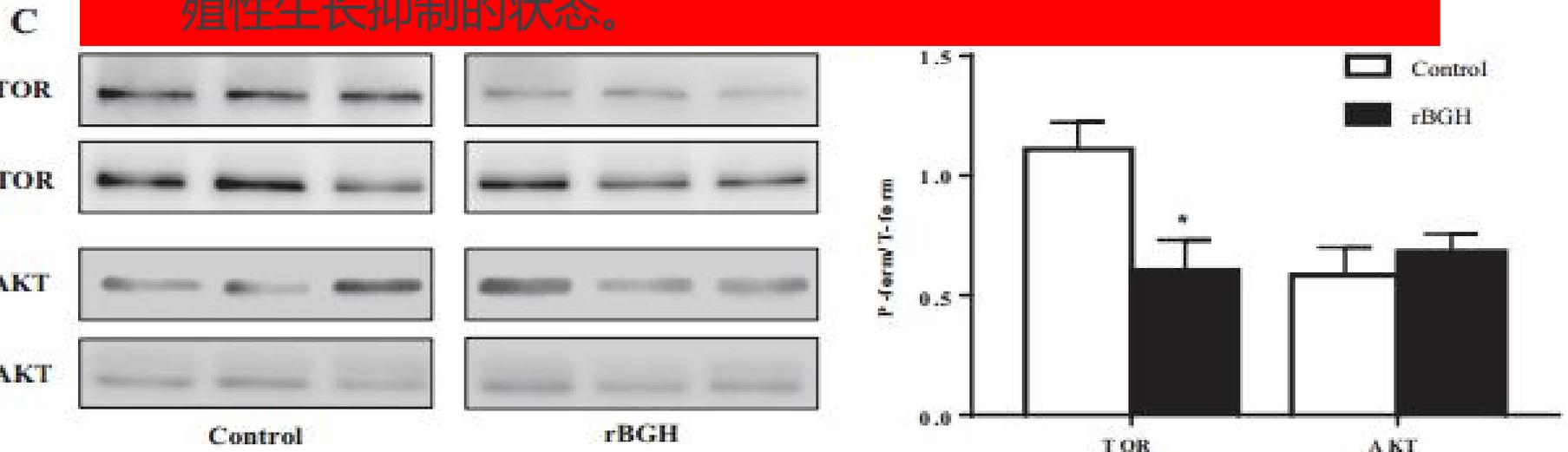


(四) 结果与分析

3. Muscle growth markers and AKT-TOR pathway gene expression and signaling



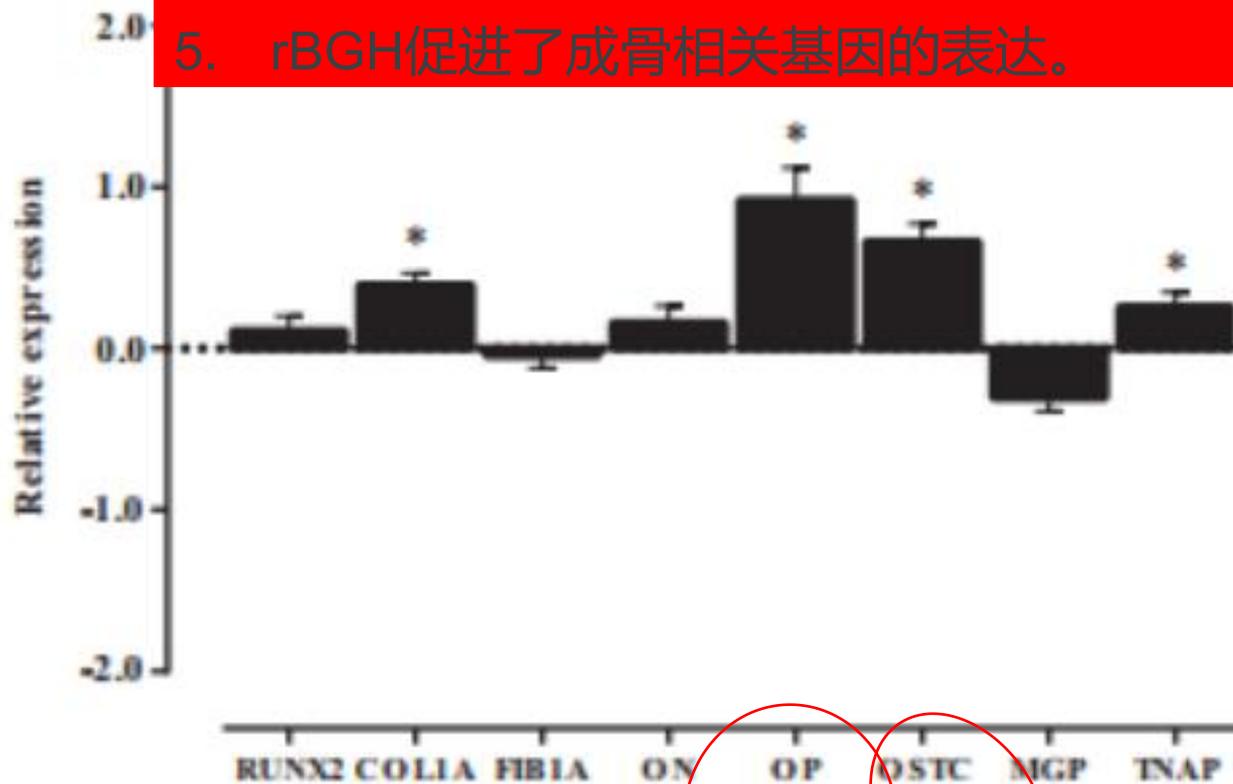
4. 注射rBGH并没有影响AKT-TOR途径及下游因子的表达，这可能与取样时骨骼肌的生理状态有关，机体处于负反馈或增殖性生长抑制的状态。



(四) 结果与分析

4. Ostogenesis-related genes expression in bone tissue

5. rBGH促进了成骨相关基因的表达。



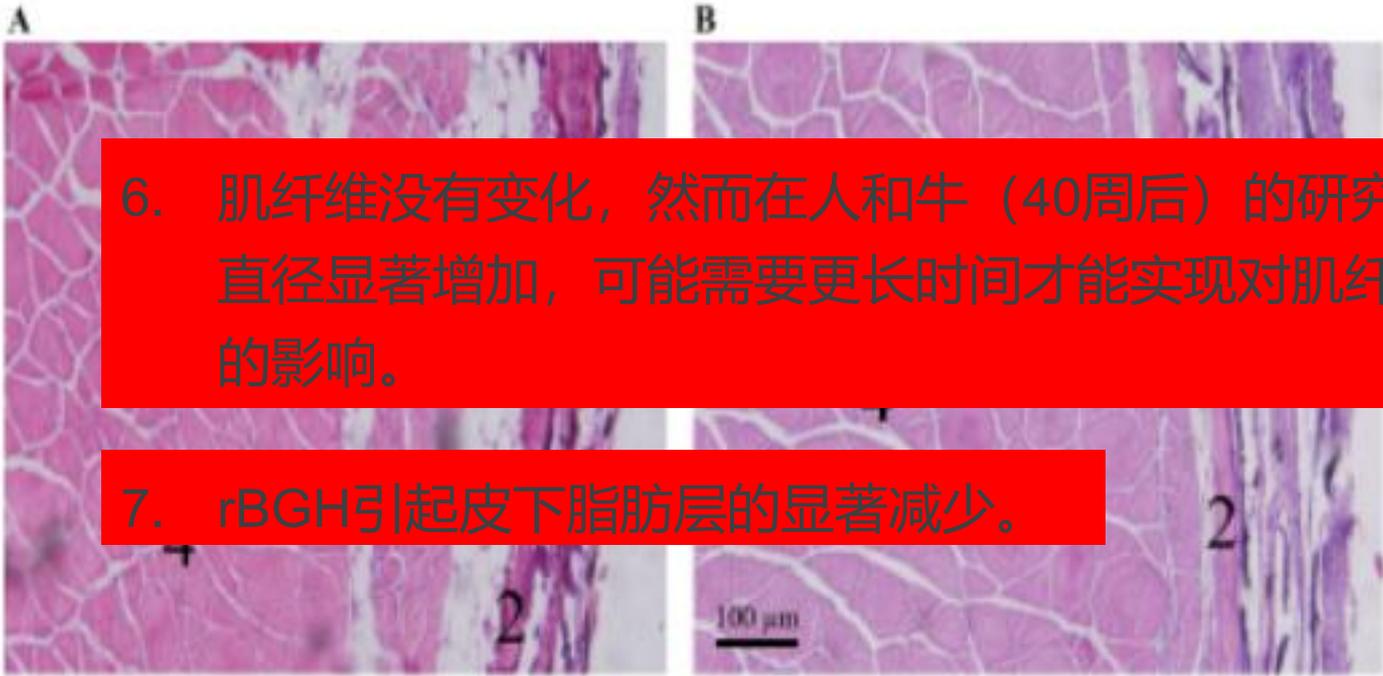
1型胶原亚基1a

骨桥蛋白 骨钙素

组织非特异性碱性磷酸酶

(四) 结果与分析

5. White muscle histology



6. 肌纤维没有变化，然而在人和牛（40周后）的研究上表明肌纤维直径显著增加，可能需要更长时间才能实现对肌纤维产生实质性的影响。

7. rBGH引起皮下脂肪层的显著减少。

4. 骨骼肌

	肌纤维面积	肌纤维周长	圆形度	纤维直径	纤维密度
	FCSA (μm ²)	FPER (μm)	SF	Feret (μm)	FD (fibers/mm ²)
Control	1898.13 ± 266.02	164.30 ± 12.03	0.72 ± 0.01	63.09 ± 4.33	429.53 ± 28.03
rBGH	1685.51 ± 251.31	161.31 ± 15.75	0.68 ± 0.03	65.42 ± 7.63	412.75 ± 56.54

（五）体会及感受、启发及感受

1. 检测指标非常全面、深入，能很好地说明问题（GH-IGF轴、生长指标，肌肉、骨骼、肝脏中的各种基因，及蛋白表达水平进行验证）
2. 分组形式，进行肌肉切片，观察肌纤维、皮下脂肪等指标，（需要借鉴）
3. 要阅读大量的文献并深入思考
4. 取材的时间点很重要，如何找到最佳的采样时间需查阅大量资料



恳请各位老师和同学

批评指正



- 如肌原调节因子(MRFs: myo/myf/MRF四个家族因子)、增殖细胞核抗原(PCNA细胞增殖标记物)、肌生长抑素(MSTN)
- MLC2A (肌球蛋白轻链) MHC (肌球蛋白重链)
- 4EBP1, 70S6K, AKT, FOXO3, TOR(AKT/TOR信号分子)

- HIS(肝脏指数),MFI (肠系膜脂肪指数)
- PI3K/AKT/TOR磷脂酰肌醇3-激酶及其下游分子所组成的信号通路参与增殖、凋亡等细胞功能的调节。



- FCSA（纤维横截面积）， FPER（肌纤维周长）
- SF(圆形度), Feret:(纤维直径), FD（纤维密度）

- RUNX2（Runt相关转录因子2），COL1A（1型胶原亚基1a）
- FIB1A（纤连蛋白），ON(骨链接素), OTC（骨钙素）
- MGP（蛋白）， TNAP(组织非特异性碱性磷酸酶)OP（骨桥蛋白）

