

文章编号: 0529-6579 (1999) 03-0072-04

STR 对幼鲤生长和肝脏 IGF-I mRNA 表达的影响^{*}

华益民, 林浩然

(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 通过以体质量 60~70 g 的幼年鲤鱼 (*Cyprinus carpio*), 每 kg 体质量以 200 mg 的剂量体腔注射链脲佐菌素 (streptozotocin, STR) 或载体溶液 200 mg, 观察鲤鱼生长、血糖、血清生长激素 (GH) 水平和肝组织胰岛素样生长因子-I (IGF-I) mRNA 水平的变化。注射 STR 的鲤生长速率比对照组显著减慢。在第 15 天和第 30 天实验组鲤鱼血糖水平以及血清 GH 水平皆无明显变化。在注射 STR 后的第 15 天肝组织 IGF-I mRNA 的表达水平比对照组明显下降, 第 30 天两组鱼肝组织 IGF-I mRNA 含量则无明显差异。注射 STR 后鲤鱼出现胰岛遭受破坏的症状。实验结果提示 STR 可能通过破坏胰岛 B 细胞导致胰岛素 (Ins) 分泌下降, 而后者则可能通过 GH 受体水平或 GH 受体以后水平的某种机制导致鲤鱼肝组织 IGF-I mRNA 表达的下降, 进而引起鲤鱼生长减慢。

关键词: 鲤鱼; 链脲佐菌素; 胰岛素样生长因子-I; 生长

中图分类号: Q 45 文献标识码: A

在哺乳动物中有关 Ins 在促进生长的作用已有较详细的报道。但在变温动物中, 对 Ins 在生长中的作用研究却很少。对虹鳟 (*Salmo gairdneri*) 和银大马哈鱼的研究表明 Ins 对鱼生长有一定的刺激作用^[1]。硬骨鱼类由于长期缺乏 IDDM 动物模型, 对 Ins 在刺激鱼类生长中作用机理的研究进展缓慢。Kelley^[1]首次报道用长颌姬虎鱼建立 IDDM 模型并以此模型研究 Ins 在鱼类生长中的作用和作用机理。建立 IDDM 模型的另外一种方法是通过药物注射。抗生素链脲佐菌素 (STR) 被认为能引发哺乳动物胰岛 B 细胞退化。因此在哺乳动物中注射适当剂量的 STR 便可建立 IDDM 模型。曾有报道鱼类对胰腺细胞毒素具有显著的抗性^[1]。对鳗鱼 (*Anguilla rostrata*) 的研究显示每千克体质量 (下同) 注射剂量达 800 mg 的 STR 未能引发鱼体形态和生理上的效应^[2]; 在鲇鱼 (*Heteropneustes fossilis*) 也仅仅引起 B 细胞脱粒、高血糖、血浆游离脂肪酸增多和肝糖元下降^[3]。以上在鱼类进行的 STR 注射实验的实验周期都较短 (几小时至 10 d), 而且由于 GH 等 RIA 尚未建立, 因此未能准确评估 STR 对鱼类内分泌系统和生长所造成的影响。近来 Plisetskaya 等^[4]用银大马哈鱼通过较长期的喂养观察注射 STR 对血清 Ins 和组织 IGF-I 表达的影响, 结果表明 STR 能诱导鱼生长减慢, 血浆 Ins 水平下降和肝组织 IGF-I mRNA 表达下降, 提示 STR 通过破坏胰岛 B

^{*} 基金项目: 中山大学基础性研究前沿基金 (022C623) 资助项目

收稿日期: 1998-06-20 作者简介: 华益民, 男, 1967 年生, 博士 通讯联系人: 林浩然。

细胞使 Ins 水平下降, 后者则诱导肝 IGF- I 表达下降进一步导致银大马哈鱼生长减缓.

鲤鱼由于胰脏分散于肠系膜之间, 很难通过手术切除, 因此本文通过注射 STR 观察注射 STR 后鲤鱼生长, 血糖, 血清 GH 水平和肝组织 IGF- I mRNA 表达的变化, 旨在了解 STR 通过破坏胰岛 B 细胞对鲤鱼生长产生的影响及其机理.

1 实验材料和方法

幼年鲤鱼, 7 月龄, 约 60~75 g, 购于广州郊区鱼场, 养于室外水泥池. 实验前先适应 2 周, 取 50 条健康鲤鱼用于实验.

STR (购于 Sigma 公司) 溶于 $w=0.7\%$ 的 NaCl 溶液. 实验组鱼每克体质量从体腔注射 200 μg 剂量的 STR, 对照组鱼注射等体积的载体溶液. 实验组鱼和对照组鱼每日投喂正常量饵料. 实验第 1 天先取样 1 次, 以后分别于第 15 天和第 30 天取样. 取样时鱼用 MS-222 麻醉, 从尾静脉抽取 1 mL 血液冰上放置 4 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 12 000 r/min 离心 6 min, 取血清-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存. 取血后迅速用消毒过的剪刀和镊子打开鱼体, 取出约 500 mg 肝组织, 立即置于液氮中保存或提取核酸. 取样后鱼测定体质量和体长以及进行组织观察. 血清中葡萄糖含量用邻甲二苯胺法测定. 血清中 GH 水平的测定用本实验建立的同源放射免疫测定法测定. 鲤鱼组织 TNA 样品用蛋白酶 K 法提取, TNA 样品中的 IGF- I mRNA 水平利用本实验室建立的液相杂交-Rnase 保护法检测^[5]. 各组间数据差异用 Student 样品均值 T 检验. $P<0.05$ 表示有显著性差异; $P<0.01$ 表示有极显著差异.

2 结 果

注射 STR 和载体溶液的鱼都能正常进食和游动, 但注射 STR 的鲤鱼几乎停止生长, 体质量极显著的小于对照组 ($P<0.01$). 而对照组鲤鱼在 30 d 的体质量生长率达 53.3%, 体长生长率达 13.4% (图 1).

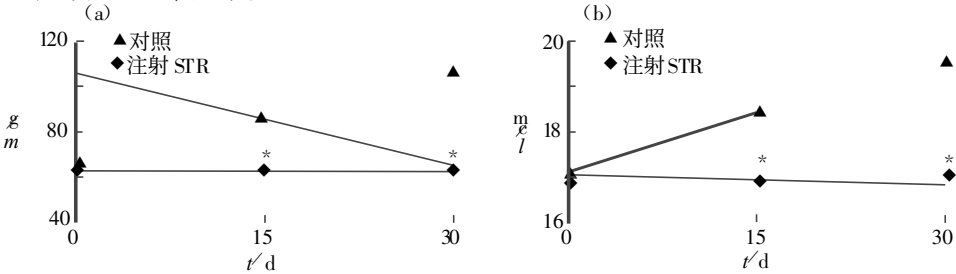


图 1 注射 STR 对幼年鲤鱼体质量 (a) 和体长 (b) 生长的影响

Fig. 1 Changes in body weight (a) and body length (b) of STR- and vehicle-injected juvenile common carp $\bar{x} \pm SD$ ($n=5\sim8$ 下同); * 表示极显著低于对照组 ($P<0.01$)

注射 STR 后的第 15 天和第 30 天血糖含量与对照组相比无明显变化 (图 2).

STR 注射后的第 15 天, 鲤鱼肝组织 IGF- I mRNA 的表达水平与对照组相比明显下降; 第 30 天, 肝组织 IGF- I mRNA 的表达量虽仍低于对照组, 但已无明显差异 (图 3a). 鲤鱼血清 GH 水平的测定表明, 实验组鱼在 30 d 的整个实验过程中血清 GH 含量与对照组相比无显著差异 (图 3b).

3 讨 论

Plisetskaya 等^[4]给银大麻哈鱼注射 STR, 观察注射后代谢和内分泌的变化, 发现每 kg 体质量注射 400 mg 的剂量已对鱼体产生毒理效应; 在注射 STR 后的第 20 天鱼呈现高血糖状态, Ins 水平和肝组织 IGF-I mRNA 丰度均明显降低; 注射 STR 后在银大马哈鱼显示的变化模式与哺乳动物的糖尿病模型相似, 表明通过注射 STR 建立糖尿病模型在鱼类是可行的。

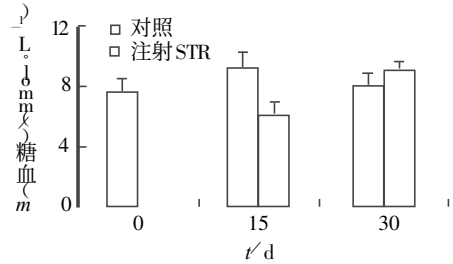


图 2 幼年鲤鱼血糖水平的变化
Fig 2 Plasma glucose in control and STR-injected (200 mg/kg) juvenile common carp

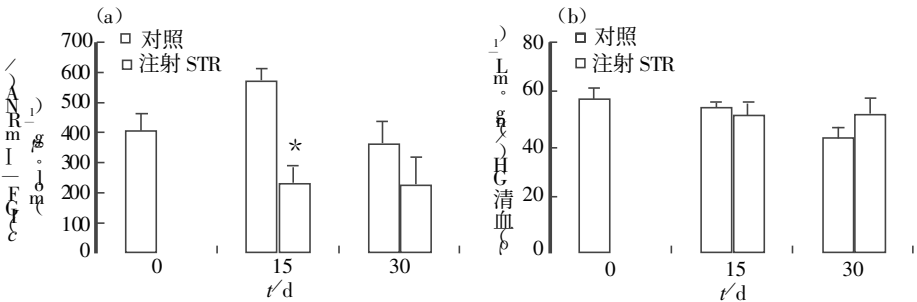


图 3 注射 STR 对幼年鲤鱼肝组织 IGF-I mRNA 表达 (a) 和血清 GH 水平的变化 (b) 的影响
Fig 3 The effect of STR injection on the expression of hepatic IGF-I mRNA (a) and serum GH level (b) in juvenile common carp
* 表示显著小于对照组 ($P<0.05$)

本实验参考文献 [4] 的用药剂量, 每 kg 体质量鲤鱼胸腔注射 200 mg 的 STR. 注射后鲤鱼肝、胆囊、血液等组织色泽和形态的变化都与银大马哈鱼相似, 生长明显受到阻碍, 在 30 d 的实验期间体质量增加不到 1 g, 而对照组鱼体质量则平均增加约 30 g, 体长平均增加约 2.3 cm. 与此相对应的是, 鲤鱼在注射 STR 后第 15 天, 肝组织 IGF-I mRNA 水平也已经明显降低, 提示由于 B 细胞的损坏引起的 Ins 水平下降已导致肝组织 IGF-I mRNA 表达量减少. 在第 30 天, 肝组织 IGF-I mRNA 水平与对照组相比已无明显变化, 提示被破坏的胰岛 B 细胞已逐步得以修复. 鲤鱼肝组织 IGF-I mRNA 量在注射 STR 后的变化与对银大马哈鱼^[4]的报道虽基本相似, 但鲤鱼对 STR 似乎具有更强的抗性. 鲤鱼在注射 STR 后的第 15 天和第 30 天未发现血糖水平与对照组相比有明显变化. 表明每 kg 体质量注射 200 mg 剂量的 STR 尚不足以引起鲤鱼血糖的显著变化, 这与文 [4] 研究结果一致.

在正常生理状态下, 无论是哺乳动物还是鱼类, GH 都是肝组织 IGF-I 表达的重要调节因子. 在本实验中注射 STR 的鲤鱼血清 GH 水平与对照相比无显著变化, 表明鲤鱼肝组织 IGF-I mRNA 水平的下降与血清 GH 水平无关. 注射 STR 的鲤鱼血清 GH 的变化和银大马哈鱼^[4]一致.

因此, 本研究结果表明体腔注射 STR 能导致鲤鱼肝组织 IGF-I mRNA 表达水平的下降和鲤鱼生长受阻. 这一变化可能是由于 STR 部分破坏了鲤鱼胰岛 B 细胞, 导致了 Ins 一定

程度的下降, 继而引发肝组织 IGF-I mRNA 表达下降所致. 鲤鱼肝 IGF-I mRNA 表达下降不是由于 GH 的变化造成的.

参考文献:

- [1] KELLEY M, GRAY E S, SIHARATH K, et al. Experimental diabetes mellitus in teleost fish (II) [J] . Endocrinology, 1993, 132: 2696~2702.
- [2] BRINN J, EPPLE A Structure and ultrastructure of the specialized islet organ of the American eel, *Anguilla rostrata* (Abstract) [J] . Anat Rec, 1972, 172: 277.
- [3] KHANNA S S, REKHARI K. Blood glucose and the histology of the pancreatic islets of *Heteropneustes fossilis* treated with streptozotocin [J] . Acta Anat, 1973, 85: 63~68.
- [4] PLISETSKAYA E M, DUAN C. Insulin and insulin-like growth factor-I in coho salmon *Oncorhynchus kisutch* injected with streptozotocin [J] . Am J Physiol, 1994, 267: 1408~1412.
- [5] 华益民, 林浩然, 钟翎. 用 Rnase 保护法定量检测鲤鱼组织胰岛素样生长因子-I mRNA 的表达 [J] . 中山大学学报 (自然科学版), 1998, 37 (4): 121~124.

Effects of STR Injection on Growth and Hepatic IGF-I mRNA Expression in Common Carp

HUA Yi-min, LIN Hao-ran^{*}

Abstract: Juvenile common carp, about 60 ~ 70 g, were injected intraperitoneally either with 200 mg/kg body wt STR, an agent known to induce damage of pancreatic B cells in mammals, or with the vehicle in order to study the effect of STR on the growth and hepatic IGF-I mRNA expression in common carp. The control fish grew quickly throughout the experiment, while the growth of STR-injected fish was retarded. There was no difference between the two groups of fish in plasma levels of either glucose or growth hormone. In corresponding with the fish growth state, on the day 15 post STR injection, the hepatic IGF-I mRNA level declined significantly. On the day 30, the hepatic IGF-I mRNA level of STR-injected fish was somehow restored. These results imply STR injection may induce hypoinsulinemia by causing pancreatic B cells destruction to some extent and then lead to diminished hepatic IGF-I production, which eventually lead to the growth retardation of STR-treated common carp.

Keywords: *Cyprinus carpio*; streptozotocin; IGF-I; growth

^{*} School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China