

鱼类胰岛素样生长因子(IGF)系统的研究进展

章力 黄希贵 王德寿*

(西南师范大学生命科学学院, 重庆市水产科学技术重点实验室 重庆 400715)

摘要: 鱼类胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGFs)是进化上相当保守的多肽,能促进组织细胞的增殖、分化和凋亡,对鱼类的生长和发育有重要的调节作用。IGF系统包括IGF-I、IGF-II、IGF-IR、IGF-IIR和IGFBP家族。本文从IGF家族成员的分子结构、生理功能和表达调节等方面综述了有关鱼类IGF体系的研究进展。

关键词: 鱼类;胰岛素样生长因子;IGF受体;IGF结合蛋白

中图分类号:Q956 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2005)02-99-07

Progress in the Studies on the IGF System in Fishes

ZHANG Li HUANG Xi-Gui WANG De-Shou

(School of Life Science, Southwest China Normal University,
Key Laboratory of Aquatic Science and Technology, Chongqing 400715, China)

Abstract: Insulin-like growth factors (IGFs) of fish are evolutionarily conserved peptides that are essential for fish growth and development. IGF system includes IGF-I, IGF-II, IGF-IR, IGF-IIR and IGFBP family. The biological actions of fish IGFs are mediated through type I receptor and type II receptor as well as IGFBPs. This paper reviews the recent progress in the understanding of the molecular structure, biological function and expression regulation of fish IGF system.

Key words: Fish; Insulin-like growth factors (IGFs); IGF receptor; IGF binding protein

胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGFs)是一类具有胰岛素样代谢和促有丝分裂功能的多肽,由两种同源多肽组成,即IGF-I和IGF-II。它们在结构上类似于胰岛素原,与胰岛素有近50%的氨基酸同源性。越来越多的研究表明,IGFs在动物生长发育中起着重要作用。一般认为IGF-I主要在出生后及成年期发挥作用介导生长激素(GH)的促生长效应,IGF-II是重要的胚胎生长和发育的调节因子,几乎不受GH调节。近年来,IGF系统在哺乳动物中的研究已经非常深入,但对鱼类IGF系统的研究尚处于起步阶段,而且主要集中在鲑鳟鱼类、日本鳗鲡、鲤科和鲈形目等几个少数种类。本文拟对鱼类IGF系统的研究状况作一较详细的介绍,期望有助于了解IGF系统在鱼类

的作用及其变化规律,促进国内对鱼类IGF体系的研究。

1 IGFs的分子结构

已经从多个物种分离得到编码IGFs蛋白的氨基酸序列,包括哺乳类、鸟类、爬行类、两栖类和鱼类。IGFs的一级结构已阐明,由4个区域构成:B-C-A-D。IGFs与胰岛素原的结构差异在于,IGFs从胰岛素原中保留了C链并且在羧基末端多一个D区域。国内外学者已从马苏

* 通讯作者;

第一作者介绍:章力,女,硕士;研究方向:动物分子生物学;

E-mail: jilysky@swnu.edu.cn

收稿日期:2004-09-28,修回日期:2004-12-29

大麻哈鱼、银大麻哈鱼、虹鳟、罗非鱼、澳洲肺鱼、斑马鱼等不同的鱼中得到 IGF- I 和 IGF- II cDNA 序列^[1]。研究发现,不同鱼之间 IGF- I 和 IGF- II 的 cDNA 顺序基本相同,蛋白质一级结构高度相似,如比目鱼与澳洲肺鱼 IGF- I 及 IGF- II 氨基酸顺序分别有 92% 和 98% 的序列相似性^[2]。此外,不同类群之间 IGFs 氨基酸序列高度同源,进化上相当保守。鱼 IGFs 与鸡、鼠、人的 IGFs 有很高的相似性,如大麻哈鱼和人 IGF- I 的 70 个氨基酸只有 14 个不同^[3],比目鱼与人成熟的 IGF- I 及 IGF- II 氨基酸顺序分别有近 75% 和 74% 的相似性^[2]。Cao 等^[3]首先从大麻哈鱼中检测到 4 种 IGF- I mRNA 转录产物 (Ea-4, Ea-3, Ea-2, Ea-1), 同样, Schmid 等^[1]从罗非鱼的卵巢和肝脏中也得到 4 种 IGF- I mRNA 转录产物。这些转录产物含有相同的信号肽区域和 B、C、A、D 区域,仅仅是 E 区域的缺失或插入而造成的差异,但在鲤鱼、黑鲷、澳洲肺鱼等仅检测到 1 种或 2 种 IGF- I 转录产物 (Ea-4, Ea-2)^[4], 这种表达差异的存在是否反映了不同鱼种生长速度和生活习性的不同,还需要进一步实验证实。

IGF- II mRNA 转录产物在不同鱼中的存在形式也不一致,有报道从罗非鱼及马苏大麻哈鱼分别检测到 3 种 IGF- II mRNA 转录产物和 1 种主要的 IGF- II mRNA 转录产物^[1,5], 对这些不同转录产物的结构分析表明,它们很可能是由于不同的剪接方式以及具有多个多聚腺苷酸位点引起的。在哺乳动物中,IGF- II 基因和胰岛素、酪氨酸羟化酶 (TH) 基因形成一个保守的连接基团,称为 TH-insulin-IGF- II 基因座,这些基因彼此之间相距 1.5 ~ 2 kb。但是,在 Palamarchuk 等^[6]克隆的马苏大麻哈鱼 IGF- II 基因附近约 20 kb 内没有发现胰岛素、TH 基因和 IGF- II 基因相连,可能是与鲑鳟鱼的基因组在基因复制形成四倍体过程中插入了一段未知大小的 DNA 片段有关,反映了鱼类基因组的复杂性。

2 IGFs 受体

IGFs 是通过与细胞表面相应受体的结合

发挥生物作用的。根据结构和功能不同,IGFs 受体分为两类,I 型受体 (IGF- I R) 和 II 型受体 (IGF- II R)。IGF- I R 是分子量为 350 ku 的异源四聚体糖蛋白,由 2 条结合配体的 α 亚基和 2 条跨膜的具有酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 蛋白激酶活性的 β 亚基组成。Pozios 等^[7]研究斑马鱼胚胎细胞 IGFs 的信号传导途径时发现当 IGF- I R 和 IGF- I 或 IGF- II (IGF- I R 与 IGF- I 的亲合力明显大于 IGF- II) 结合后,会引起 IGF- I R β 亚基、胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate-1, IRS-1)、胰岛素受体底物 2 (IRS-2)、Shc、Grb2 和 Grab10 等一些接头蛋白及促有丝分裂蛋白激活蛋白激酶 (MAPK) 的酪氨酸磷酸化,然后这些分子与下游感应分子和效应分子相互作用,继而开启细胞内 2 条主要信号通路:MAPK 激酶途径和 PI3 激酶途径。MAPK 激酶途径主要介导细胞增殖,而 PI3 激酶途径对促有丝分裂、代谢和抗细胞凋亡有重要作用。

对鱼类基因组的研究表明,鱼类的祖先可能经过一次基因组复制行为^[8,9],因此由 2 个不同的基因编码同一种蛋白在鱼类是很普遍的现象,如已有报道从鱼类分离出 2 个胰岛素基因^[10]和两个 GH 基因^[11]等,目前本实验室也从南方鲇 (*Silurus meridionalis*) 中成功地克隆出 2 个由不同基因编码的生长激素受体基因(待发表)。最近 Maures 等^[12]从斑马鱼中克隆得到 2 个 IGF- I R 基因 (IGF- I Ra, IGF- I Rb), 用免疫沉淀法表明这两种 IGF- I R 基因都与 IGFs 结合,且都能表达,但不与胰岛素结合。IGF- I Ra mRNA 水平在胚胎发生的早期相对较低,在幼鱼阶段上升,而 IGF- I Rb 的表达情况恰恰相反。这两种受体不同的表达模式说明它们在调节斑马鱼生长和发育中有不同的作用。

II 型受体也称非阳离子依赖性甘露糖-6-磷酸 (M6P) 受体,是分子量为 250 ~ 270 ku 的单链糖蛋白。关于硬骨鱼 IGF- II 受体的研究报道不多,之前人们认为在硬骨鱼中缺少 IGF- II / M6P 受体,但是 Mendez 等^[13]用免疫沉淀法从褐鲟卵巢中检测到 IGF- II / M6P 受体,其结构与哺乳动物的 IGF- II / M6P 受体相似,缺少 Tyr 激酶

活性,并且只有一小部分 IGF-II 能与 IGF-II/M6P 受体结合,大部分 IGF-II 是与 I 型受体相结合发挥生物功能的。目前仅有报道从剑尾鱼(*Xiphophorus xiphidium*)中克隆出 IGF-II 受体的部分基因片断,其编码的氨基酸顺序与哺乳动物 IGF-II/M6P 受体的相应部分有 50% 的相似性^[14]。目前在哺乳动物中的研究认为 IGF-II/M6P 受体的主要作用是内化并降解细胞外的 IGF-II,调节 IGF-II 的促有丝分裂作用。例如,卵巢 II 型 IGF 受体缺乏的小鼠,血清 IGF-II 水平上升,并加快了小鼠胎儿体细胞的生长^[15]。但是,似乎还没有关于 IGF-II/M6P 受体在鱼类生理作用方面的报道。

3 IGFs 结合蛋白

血液中大部分 IGFs 与 IGF 结合蛋白(IGF binding protein,IGFBP)相结合调节细胞的生长和代谢。在哺乳动物中至少已分离出 6 种 IGFBPs,分别命名为 IGFBP1-6。大多数 IGFs 是与 IGFBP-3 和酸不稳定亚基(ALS)结合形成 150 ku 的三元复合物,只有不到 5% 的 IGFs 在血液中是以游离形式存在的。不同的 IGFBPs 经过不同的翻译后修饰,包括磷酸化(IGFBP-1,IGFBP-3,IGFBP-5)、N-糖基化(IGFBP-3,IGFBP-4)、O-糖基化(IGFBP-5,IGFBP-6)和限制性蛋白水解作用(IGFBP-2,IGFBP-3,IGFBP-4,IGFBP-5)这些复杂的翻译后修饰受胰岛素、生长激素和其它生长因子调节^[16]。

目前在硬骨鱼中报道的 IGFBPs 主要有 3 种,大小在 24~50 ku,与哺乳动物 IGFBPs 分子量和功能相比,有人认为在硬骨鱼类小于 31 ku 的 IGFBP 相当于哺乳类的 IGFBP-1,40~50 ku 的 IGFBP 相当于哺乳类的 IGFBP-3^[17]。从黑鲷和斑马鱼中分离出的 IGFBP-2 与其它脊椎动物的 IGFBP-2 结构高度相似,在 N 和 C 末端有富含半胱氨酸区域,这两个区域在不同的物种间高度保守,是与 IGFs 结合必需的。同时,在 C 端有与哺乳动物 IGFBP-2 相同的 RGD(Arg-Gly-Asp)序列,此结构可能对细胞与细胞或细胞与细胞基质之间的连接、细胞运动和迁移有重要作用^[18,19]。最近从大鳞大麻哈鱼分离得到的

41 ku IGFBP 蛋白,经研究与 IGF-I 的含量正相关,其功能与哺乳动物 IGFBP-3 相当,可能是大麻哈鱼 IGF-I 的主要载体^[20]。IGFBPs 除了能延长 IGFs 半衰期,运送 IGFs 到靶组织外,在鱼类还发现了其它一些功能。Chen 等^[21]发现斑马鱼 IGFBP-3 在胚胎发育的囊胚阶段高度表达,表明它可能参与胚胎早期的发育调节,同时它还受 IGF-I、IGF-II 和胰岛素调节。禁食 45 d 的鲑鱼,血浆 20 ku IGFBP 蛋白水平上升,而 35 与 45 ku 高分子量 IGFBPs 在采食或禁食的鲑鱼中变化不大^[17]。类似的研究在条纹鲈鱼中也有报道。在禁食 30 d 的条纹鲈鱼中观察到 25 ku IGFBP 水平上升,而 35 ku 高分子量的 IGFBP 水平没有显著改变^[22]。这些研究表明,低分子量的 IGFBPs 可能在低能量的分解代谢情况下阻止能量消耗的合成代谢,起到调节新陈代谢的作用,但高分子量的 IGFBPs 作用还不清楚。最近发现给斑马鱼注射 GH 会引起 IGFBP-2 表达受到抑制,因此有人提出 IGFBP-2 是斑马鱼的生长抑制蛋白^[19]。但是,在相同情况下 IGFBP-3 的表达却显著上升^[21]。由于 IGFBPs 有多种以及低分子量的 IGFBPs 广泛分布于硬骨鱼不同组织,因此 IGFBPs 在调节 IGFs 功能方面不仅重要而且相当复杂,已成为鱼类 IGFs 研究领域的热点之一。

4 IGFs 的生理功能

IGFs 在哺乳动物中的功能研究已经非常深入,但在鱼类的研究尚不完全清楚。鱼类的生长方式和哺乳动物不同,通常哺乳动物在性成熟后不再生长,而鱼类在达到“成年”期只要食物充足仍然继续生长,说明鱼类的生长因子有其特殊的生理作用。IGF-I 及 IGF-II 的主要来源是肝脏,但也可通过自分泌/旁分泌作用于自身或相邻的肝外组织细胞,促进其生长和分化。目前在硬骨鱼的脑、鳃、胃、肠、肾和胰腺等组织中都发现有 IGF-I 及 IGF-II 的表达。最近 Ottesson 等^[23]用 Northern 杂交法在金鱼视网膜检测到 IGF-I 及 IGF-I R 的表达,除肝脏外,和其它组织相比,IGF-I 在视网膜的表达相对较高,

但是它的生物学意义还不清楚,可能与硬骨鱼视网膜神经元的持续生长和突触发生有关。

在哺乳动物中,性腺 IGFs 参与生殖系统生长发育的作用已有详细报道,最近又在小鼠中发现精巢的分化需要胰岛素受体 T_{yr} 激酶家族的参与,包括胰岛素受体和 IGF- I 受体^[24]。IGFs 系统在鱼类也有相似的作用,参与性类固醇激素的生成。IGF- I 及 IGF- II 能诱导罗非鱼卵母细胞的成熟和颗粒细胞的增殖与分化^[3]。此外,Kagawa 等^[25]还发现 IGF- I 能增强黑鲟卵巢芳香化酶活性和细胞色素 P450 芳香化酶基因表达,从而刺激卵泡 17β -雌二醇的生成。Gentil 等^[26]在观察虹鳟性周期过程中血浆 IGF- II 的变化情况时发现雄性虹鳟 IGF- II 水平没有明显变化,而雌性虹鳟在卵黄生成期血浆 IGF- II 水平显著上升。推测鱼类 IGF- II 可能参与卵黄的生成,以供胚胎后期发育使用,说明 IGF- I 和 IGF- II 在鱼类生殖发育中有重要的生理作用。

近几年的研究表明,IGFs 能刺激或抑制一些激素的释放。有报道 IGF-I 在体外会抑制杂交条纹鲈鱼和大比目鱼垂体释放 GH^[27],这与在哺乳动物中观察到的结果一致。同时 Kajimura 等^[28]研究发现,和抑制 GH 释放不同,IGF- I 和 IGF- II 会刺激罗非鱼垂体释放促乳素(prolactin, PRL),但并不改变 PRL mRNA 含量,说明 IGFs 是在转录后水平调节 PRL 的。IGFs 对硬骨鱼肌肉的生长发育也有明显的促进作用。最近,Castillo 等^[29]在研究 IGF- I 和胰岛素对虹鳟肌肉的代谢和促有丝分裂作用时发现,IGF- I 比胰岛素更能有效地促进虹鳟肌细胞吸收 2-脱氧葡萄糖(2-DG),当肌细胞分化至肌管时,这种刺激作用会增强。同时,IGF- I 能刺激体外虹鳟肌细胞分化,而胰岛素不能刺激其分化,说明 IGF- I 在鱼类肌肉生长和代谢中的重要作用。

5 IGFs 表达的调节

鱼类 IGFs 的表达受营养状况、生长环境和激素水平等因素调节。

和哺乳动物一样,营养状况也影响着鱼类

IGFs 基因的表达。饥饿和发育迟缓的银大麻哈鱼肝脏 IGF- I mRNA 水平下降,但是和啮齿类动物不同的是,在肝外组织中并没有发现 IGF- I mRNA 水平下降^[30],说明鲑鳟鱼类 IGF- I mRNA 对营养状况的反应仅局限于肝组织内。对肝外组织的研究还发现,营养状况会不同程度地影响 IGF- I 和 IGF- II 表达水平。Chauvigne 等^[31]给饥饿的虹鳟重新喂食后,在 4 d 和 12 d 内肌肉 IGF- I mRNA 表达分别上升了 8 倍和 15 倍,其后 IGF- I mRNA 水平下降。与此相反,在喂食 1 周内,IGF- II mRNA 水平上升非常缓慢,表明营养代谢对 IGF- I 和 IGF- II 的影响具有组织特异性,也反映了它们在促进肌肉生长方面可能具有不同的作用。

环境变化,如盐度、渗透压、温度等的改变都会影响鱼类 IGFs 的表达。鲑科鱼类在幼年期会经历一次从淡水入海水的过程,期间将发生一系列生理和行为的改变以适应海水生活。Sakamoto 等^[32]发现,在 2 龄鲑鱼降河下海的适应过程中,肝脏 IGF-I mRNA 水平上升,1 个月后观察到鳃 IGF-I mRNA 水平也上升,但在其他组织中并未发现 IGF-I 水平发生变化。Deane 等^[33]首次报道了黑鲟在高盐度(50 ppt)海水(33 ppt)等渗(12 ppt)低渗(6 ppt)溶液中,盐度对 IGF-I 表达的影响,发现在等渗溶液中黑鲟肝脏 IGF-I mRNA 含量最高,这可能与 IGF-I 的渗透调节作用有关。鱼类在开始经历环境胁迫时,比如将海水生活的鱼转移到淡水中养殖,或是将野生鱼进行人工培养时,体内 IGF-I 水平都将显著下降,必须经过一段时间后 IGF-I 水平才能逐渐恢复到原有水平,这可能与 IGF-I 的内分泌调节作用以及 IGF-I 在体内的清除率有关^[34]。此外,温度也影响 IGFs 基因表达。Gabillard 等^[35]研究 4、8、12℃ 时虹鳟胚胎 IGFs 的表达情况,发现在 12℃ 时胚胎 IGF-II 和 IGF-I R mRNA 水平显著上调,而 IGF-I mRNA 水平没有变化,并且 IGF-II 和 IGF-I R 表达的变化与胚胎生长速度的显著加快有关。

体内和体外实验都证明 GH 能刺激 IGF-I 的合成。已在银大麻哈鱼、鳟和 黑鲟中证实,经 GH 处理后,肝脏 IGF-I mRNA 水平显著上升,且

呈剂量依赖性反应。但是, GH 对不同硬骨鱼 IGF-II 基因表达的作用是不同的。黑鲟经 GH 处理后, 肝脏和一些肝外组织的 IGF-II mRNA 水平没有变化^[36], 而虹鳟用 GH 处理后, 肝脏 IGF-II mRNA 水平有显著上升^[37], 目前还不清楚是什么原因造成这两种不同的变化, 因此对 IGF-II 在硬骨鱼中的复杂生理作用需要进一步研究。除了 GH 外, 促乳素(PRL)对 IGFs 的表达也有一定的刺激作用, PRL 是鱼类在海水中保持水分和矿物质动态平衡的重要激素。Shepherd 等^[38]报道 PRL177 会提高罗非鱼肝脏 IGF-I mRNA 水平, 当 PRL177 达到足够量时, 会成为淡水鱼体内 GH 受体竞争性配基, 发挥促生长作用, 使肝组织 IGF-I mRNA 丰度上升。此外, 甲状腺激素(T3)对 IGF-I 的表达也有一定的刺激作用。Schmid 等^[39]采用离体和在体的实验都证实 T3 会直接刺激罗非鱼肝细胞 IGF-I 产物, 且呈剂量依赖性反应。

6 小 结

近年来对鱼类 IGFs 家族的研究已开始兴起, 目前的研究表明硬骨鱼 IGF 体系主要成员的结构和功能与哺乳动物的非常相似。但是鱼类的生长方式不同于哺乳动物, 进一步的研究将帮助我们更好地理解 IGFs 体系在鱼类的特殊功能。国内已有人构建了草鱼 IGF-I 大肠杆菌表达质粒, 并获得高纯度的草鱼 GST-I GF 融合蛋白, 以此融合蛋白为抗原制备了高效价的兔抗草鱼 IGF-I 的抗血清, 为进一步研究鱼类 IGF-I 及其受体在组织中的定位、含量的变化、生理作用以及在生产中的应用打下了基础^[40~42]。今后的研究将着重于不同鱼种 IGF 家族成员的生化特征、生理功能、表达调控的分子机制以及它们与人工养殖的关系等方面, 其研究成果对提高水产养殖业的技术方法, 研制开发新型鱼类促生长添加剂, 促进水产养殖业的进一步发展都将有重要意义。

参 考 文 献

[1] Schmid A C, Esther N, Kloas W, et al. Insulin-like growth factor -I and -II in the ovary of a bony fish, *Oreochromis*

mossambicus, the tilapia: *in situ* hybridization, immunohistochemical localization, Northern blot and cDNA sequences. *Mol Cell Endocrinol*, 1999, **156**: 141 ~ 149.

- [2] Duval H, Rousseau K, Elies G, et al. Cloning, characterization, and comparative activity of turbot IGF-I and IGF-II. *Gen Comp Endocrinol*, 2002, **126**: 269 ~ 278.
- [3] Cao Q P, Duguay S J, Plisetskaya E, et al. Nucleotide sequence and growth hormone regulated expression of salmon insulin-like growth factor I mRNA. *Mol Endocrinol*, 1989, **3**: 2005 ~ 2010.
- [4] Company R, Astola A, Pendon C, et al. Somatotropic regulation of fish growth and adiposity: growth hormone(GH) and somatolactin (SL) relationship. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2001, **130**(4): 435 ~ 445.
- [5] Palamarchuk A Y, Holthuijzen P E, Muller W E G, et al. Organization and expression of the chum salmon insulin-like growth factor II gene. *FEBS Lett*, 1997, **416**: 344 ~ 348.
- [6] Palamarchuk A, Gritsenko O, Holthuijzen E, et al. Complete nucleotide sequence of the chum salmon insulin-like growth factor II gene. *Gene*, 2002, **295**: 223 ~ 230.
- [7] Pozios K C, Ding J, Degger B, et al. IGFs stimulate zebrafish cell proliferation by activating MAP kinase and PI3-kinase-signaling pathways. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 2001, **280**: R1 230 ~ R1 239.
- [8] Amores A, Force A, Yan Y L, et al. Zebrafish hox clusters and vertebrate genome evolution. *Science*, 1998, **282**: 1 711 ~ 1 714.
- [9] Taylor J S, Braasch L, Frickey T, et al. Genome duplication, a trait shared by 22 000 species of ray-finned fish. *Genome Res*, 2003, **13**(3): 382 ~ 390.
- [10] Irwin D M. A second insulin gene in fish genomes. *Gen Comp Endocrinol*, 2004, **135**(1): 150 ~ 158.
- [11] 劳海华, 白俊杰, 叶星等. 鲫两种不同生长激素 cDNA 的分子克隆和分析. *水生生物学报*, 2004, **28**(1): 74 ~ 79.
- [12] Maures T, Chan S J, Xu Bin, et al. Structural, biochemical, and expression analysis of two distinct insulin-like growth factor I receptors and their ligands in zebrafish. *Endocrinology*, 2002, **143**(5): 1 858 ~ 1 871.
- [13] Mendez E, Planas J V, Castillo J, et al. Identification of a type II insulin-like growth factor receptor in fish embryos. *Endocrinology*, 2001, **142**(3): 1 090 ~ 1 097.
- [14] Yerramalla U L, Nadimpalli S K, Peter Schu, et al. Conserved cassette structure of vertebrate Mr 300 kDa mannose-6-phosphate receptors: partial cDNA sequence of fish MPR 300. *Comp Biol Physiol*, 2000, **127**: 433 ~ 441.
- [15] Lau M M H, Stewart C E H, Liu Z, et al. Loss of the imprinted IGF2/cation-independent mannose 6-phosphate receptor results in

- fetal overgrowth and perinatal lethality. *Genes Dev*, 1994, **8**: 2 953 ~ 2 963.
- [16] Laursen T, Gravholt C H, Heickendorff L, *et al.* Longterm effects of continuous subcutaneous infusion versus daily subcutaneous injections of growth hormone (GH) on the insulin-like growth factor system, insulin sensitivity, body composition, and bone and lipoprotein metabolism in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, **86**(3): 1 222 ~ 1 228.
- [17] Peterson B C, Small B C. Effects of fasting on circulation IGF-binding proteins, glucose, and cortisol in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Domest Anim Endocrinol*, 2004, **26**: 231 ~ 240.
- [18] Funkenstein B, Tsai W, Maures T, *et al.* Ontogeny, tissue distribution, and hormonal regulation of insulin-like growth factor binding protein-2 (IGFBP-2) in a marine fish, *Sparus aurata*. *Gen Comp Endocrinol*, 2002, **128**: 112 ~ 122.
- [19] Duan C, Ding J, Li Q, *et al.* Insulin-like growth factor binding protein 2 is a growth inhibitory protein conserved in zebrefish. *Proc Natl Acad Sci*, USA, 1999, **96**(26): 15 274 ~ 15 279.
- [20] Shimizu M, Hara A, Dickhoff W W. Development of an RIA for salmon 41 kDa IGF-binding protein. *J Endocrinol*, 2003, **178**(2): 275 ~ 283.
- [21] Chen J Y, Chen J C, Huang W T, *et al.* Molecular cloning and tissue-specific, development-stage-specific, and hormonal regulation of IGFBP3 gene in zebrefish. *Mar Biotechnol*, 2004, **6**: 1 ~ 7.
- [22] Siharath K, Kelley K M, Bern H A. A low-molecular-weight (25 kDa) IGF-binding protein is increased with growth inhibition in the fasting striped bass, *Morone saxatilis*. *Gen Com Endocrinol*, 1996, **102**: 307 ~ 316.
- [23] Otteson D C, Cirenza P F, Hitchcock P F. Persistent neurogenesis in the teleost retina: evidence for regulation by the growth-hormone/insulin-like growth factor- I axis. *Mechanisms of Development*, 2002, **117**: 137 ~ 149.
- [24] Nef S, Verma-Kurvari S, Merenmies J, *et al.* Tesis determination requires insulin receptor family function in mice. *Nature*, 2003, **426**(6 964): 291 ~ 295.
- [25] Kagawa H, Gen K, Okuzawa K, *et al.* Effects of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone and insulin-like growth factor- I on aromatase activity and P450 aromatase gene expression in the ovarian follicles of red seabream, *Pagrus major*. *Biol Reprod*, 2003, **68**(5): 1 562 ~ 1 568.
- [26] Le Ball P Y, Gentil V, Noel O, *et al.* Structure, function, and regulation of insulin-like growth factors in fish. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1998, **839**: 157 ~ 161.
- [27] Fruchtman S, Jackson L, Borski R. Insulin-like growth factor- I disparately regulates prolactin and growth hormone synthesis and secretion: studies using the teleost pituitary model. *Endocrinology*, 2000, **141**: 2 886 ~ 2 894.
- [28] Kajimura S, Uchida K, Yada T, *et al.* Effects of insulin-like growth factors (IGF- I and IGF- II) on growth hormone and prolactin release and gene expression in euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Gen Comp Endocrinol*, 2002, **127**: 223 ~ 231.
- [29] Castillo J, Codina M, Martinez M L, *et al.* Metabolic and mitogenic effects of IGF- I and insulin on muscle cells of rainbow trout. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2004, **286**(5): R935 ~ 941.
- [30] Duan C. Nutritional and developmental regulation of insulin-like growth factors in fish. *J Neuroendocrinol*, 1998, **128**(2): 306 S ~ 314 S.
- [31] Chauvigne F, Gabillard J C, Weil C, *et al.* Effect of refeeding on IGF I, IGF II, IGF receptors, FGF2, FGF6, and myostatin mRNA expression in rainbow trout myotomal muscle. *Gen Comp Endocrinol*, 2003, **132**: 209 ~ 215.
- [32] Sakamoto T, Hirano T, Madsen S S, *et al.* Insulin-like growth factor-I gene expression during parr-smolt transformation in coho salmon. *Zool Sci*, 1995, **12**: 249 ~ 252.
- [33] Deane E E, Kelly S P, Luk J C, *et al.* Chronic salinity adaptation modulates hepatic heat shock protein and insulin-like growth factor I expression in black seabream. *Mar Biotechnol*(NY), 2002, **4**(2): 193 ~ 205.
- [34] Dyer A R, Upton Z, Stone D, *et al.* Development and validation of a radioimmunoassay for fish insulin-like growth factor I (IGF- I) and the effect of aquaculture related stressors on circulating IGF- I levels. *Gen Comp Endocrinol*, 2004, **135**(3): 268 ~ 275.
- [35] Gabillard J C, Rescan P Y, Fauconneau B, *et al.* Effect of temperature on gene expression of the Gh/Igf system during embryonic development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Exp Zoology Part A Comp Exp Biol*, 2003, **298**(2): 134 ~ 142.
- [36] Duguay S J, Lai-Zhang J, Steiner D F, *et al.* Developmental and tissue-regulated expression of IGF- I and IGF- II mRNAs in *Sparus aurata*. *Mol Endocrinol*, 1996, **16**: 123 ~ 132.
- [37] Shambloft M J, Cheng C M, Bolt D, *et al.* Appearances of insulin-like growth factor mRNA in the liver and pyloric cae of a teleost in response to exogenous growth hormone. *Proc Natl Acad Sci*, USA, 1995, **92**: 6 943 ~ 6 946.
- [38] Shepherd B S, Sakamoto T, Nishioka R S, *et al.* Somatotropic actions of the homologous growth hormone (tGH) and prolactin (tPRL177) in the euryhaline teleost, *Oreochromis mossambicus*. *Proc Natl Acad Sci*, USA, 1997, **94**: 2 068 ~ 2 072.
- [39] Schmid A C, Lutz I, Kloas W, *et al.* Thyroid hormone

- stimulates hepatic IGF- I mRNA expression in a bony fish , the tilapia *Oreochromis mossambicus* , *in vitro* and *in vivo* . *Gen Comp Endocrinol* , 2003 , **130**(2) : 129 ~ 134 .
- [40] 叶星 , 白俊杰 , 劳海华等 . 草鱼胰岛素样生长因子- I 的融合表达、纯化和抗血清制备 . 水产学报 , 2001 , **26** (2) : 122 ~ 126 .
- [41] 华益民 , 林浩然 . 草鱼 IGF- I cDNA 的克隆和在原核生物中的表达 . 动物学报 , 2001 , **47**(3) : 274 ~ 279 .
- [42] 叶星 , 白俊杰 , 简清等 . 草鱼胰岛素样生长因子- I 基因在大肠杆菌中的表达 . 中国生物化学与分子生物学报 , 2001 , **17**(6) : 725 ~ 728 .