

网络出版时间:2017-03-31 16:08

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2017.05.001

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20170331.1608.002.html>

卵巢摘除对山羊组织 IGF-Ⅱ 和 IGF-Ⅱ R 基因表达量的影响

万 露¹, 彭 方¹, 张 磊¹, 周占琴¹, 谢东淇¹, 白前前¹,
鲍 文¹, 张爱平², 袁生字³

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2 金昌市畜牧技术推广服务中心, 甘肃 金昌 737100;
3 靖边县生产力促进中心, 陕西 榆林 718500)

【摘 要】【目的】研究卵巢摘除对布尔山羊杂种母山羊羔肝脏、背最长肌、股二头肌中胰岛素样生长因子Ⅱ(IGF-Ⅱ)及其受体(IGF-Ⅱ R)基因表达量的变化,从分子水平探讨卵巢摘除对这些组织中 IGF-Ⅱ 和 IGF-Ⅱ R 基因表达量的影响,探讨去卵巢是否可以促进羔羊生长发育。【方法】将体质量相近的 5 月龄布尔山羊杂种母山羊羔作为研究对象,随机分为处理组 and 对照组。试验初期摘除处理组母山羊羔卵巢,对照组不摘除。饲养 60 d 后,取肝脏、背最长肌、股二头肌组织样,运用实时荧光定量 PCR 法(RT-qPCR)检测其中 IGF-Ⅱ 和 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 相对表达量。【结果】卵巢摘除后,母山羊羔背最长肌、股二头肌中 IGF-Ⅱ 基因和肝脏中 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 相对表达量极显著高于对照组($P<0.01$),而背最长肌中 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 表达量显著低于对照组($P<0.05$),肝脏中 IGF-Ⅱ 基因和股二头肌中 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 相对表达量低于对照组,但差异不显著($P>0.05$)。【结论】摘除卵巢可上调背最长肌和股二头肌中 IGF-Ⅱ 基因以及肝脏中 IGF-Ⅱ R 基因的表达,但下调背最长肌和股二头肌中 IGF-Ⅱ R 基因以及肝脏中 IGF-Ⅱ 基因的表达,表明摘除卵巢有利于母山羊羔肌肉发育和肉质的改进与提高。

【关键词】 卵巢摘除; 布尔山羊杂种母山羊羔; 胰岛素样生长因子Ⅱ; 胰岛素样生长因子Ⅱ受体

【中图分类号】 S858.27

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2017)05-0001-06

Influences of ovariectomy on IGF-Ⅱ and IGF-Ⅱ R in tissues of Boer goats

WAN Lu¹, PENG Fang¹, ZHANG Lei¹, ZHOU Zhanqin¹, XIE Dongqi¹,
BAI Qianqian¹, BAO Wen¹, ZHANG Aiping², YUAN Shengyu³

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 The Animal Husbandry and Technology Promotion Service Center of Jinchang, Jinchang, Gansu 737100, China;

3 The Productivity Promotion Center of Jingbian, Yulin, Shaanxi 718500, China)

Abstract: 【Objective】The objective of this study was to investigate the influences of ovariectomy on relative mRNA expression levels of insulin-like growth factor Ⅱ (IGF-Ⅱ) and its receptor (IGF-Ⅱ R) in hybrid ewes of Boer goats. 【Method】The hybrid ewes of Boer goats at the age of about 5 months with similar weights were randomly divided into test and control groups. The ewes in test group were ovariectomized at the beginning and the control group was not. After 60 days, ewes of both groups were selected randomly to slaughter. Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the relative mRNA ex-

【收稿日期】 2016-02-29

【基金项目】 陕西省科技统筹工程计划项目“羊优质高效集约化生产关键技术与示范”

【作者简介】 万 露(1990—),女,四川眉山人,硕士,主要从事动物生殖生理研究。E-mail:276109884@qq.com

【通信作者】 周占琴(1958—),女,甘肃庆阳人,教授,硕士,主要从事遗传育种与繁殖研究。E-mail:zzqdr1958@163.com

pression levels of IGF-Ⅱ and IGF-Ⅱ R in liver, longissimus muscle, and biceps femoris. 【Result】 The relative mRNA expression level of IGF-Ⅱ gene in longissimus muscle and biceps femoris and that of IGF-Ⅱ R gene in liver were extremely significantly higher than in control group ($P<0.01$). The relative mRNA expression levels of IGF-Ⅱ R gene in longissimus muscle was significantly lower than that in control group ($P<0.05$), the relative expression level of IGF-Ⅱ gene in liver and that of IGF-Ⅱ R gene in biceps femoris were lower than those in control group, but the difference was not significant ($P>0.05$). 【Conclusion】 Ovariectomy increased the expression of IGF-Ⅱ in longissimus muscle and biceps femoris and the expression of IGF-Ⅱ R in liver, but reduced the expression of IGF-Ⅱ R in longissimus muscle and biceps femoris and the expression of IGF-Ⅱ in liver. It is suggested that ovariectomy is advantageous to muscle development of hybrid ewes of Boer goat and improvement and enhancement of meat quality.

Key words: ovariectomized; hybrid ewes of Boer goat; IGF-Ⅱ; IGF-Ⅱ R

布尔山羊以生长速度快、抗病力强、适应性广而著名。随着人们生活水平的提高和科学技术进步,动物自然生长效率已无法满足市场对其日益迫切的需求。近年来,动物生殖生理调控技术不断被运用于改善动物生长速度及肉质风味等领域。去势是常用的动物生殖调控方式,不仅可以显著提高动物产肉性能,还能改善肉品质^[1-2]。胰岛素样生长因子(IGF)是一种促进组织细胞生长发育的多肽,作为促进细胞分裂和代谢的多功能调控因子,它是参与肌肉生长和发育的关键调控因子。IGF-Ⅱ和IGF-Ⅱ R是胰岛素样生长因子系统(IGFs)中的重要成员,其中IGF-Ⅱ主要由肝脏合成分泌,不但可以维持细胞的正常功能和组织器官的生长发育,而且还有很强的抗凋亡作用^[3]。Van等^[4]认为,IGF-Ⅱ影响肌肉的增长,且IGF-Ⅱ基因表达量与肌肉增长呈正相关性;Ren等^[5]发现,添加外源IGF-Ⅱ能促进细胞分化。IGF-Ⅱ R为IGF-Ⅱ受体,其与IGF-Ⅱ结合引起IGF-Ⅱ内在变化,进而抑制酪氨酸激酶的激活反应,并最终表现出生长抑制的作用。IGF-Ⅱ R的缺失将引起生长抑制作用消失,机体生长过度。Young等^[6]研究证明,IGF-Ⅱ R的功能缺失是导致小鼠过度生长的主要原因,表明IGF-Ⅱ R基因的表达量与动物生长发育成负相关;Wylie等^[7]采用组成性启动子驱动Cre表达破坏IGF-Ⅱ R功能,最终也导致胚胎过度生长。因此,通过检测组织中IGF-Ⅱ和IGF-Ⅱ R的基因表达量,在分子水平上反映卵巢摘除对机体组织的影响具有重要意义。近年来,通过卵巢摘除术来改善家畜生长性能的研究相继被报道,但其机理未见涉及;卵巢摘除对羊组织中IGF-Ⅱ和IGF-Ⅱ R基因表达的影响研究也尚未见报道。本研究以布尔山羊和关中奶山羊的杂种一代母羊作为试验羊,采用SYBR Green实时荧光定量

PCR法,分别检测并分析试验羊肝脏、背最长肌、股二头肌组织中IGF-Ⅱ和IGF-Ⅱ R基因的表达式变化,以初步揭示布尔山羊肉质性状形成的分子遗传学基础,为卵巢摘除术的运用和推广提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器 DEPC、Maker、SYBR Premix Ex Taq Ⅱ 2X、Trizol、Prime Script RT Reagent Kit with gDNA Eraser,均为TaKaRa公司产品;CFX96 荧光定量PCR仪购自美国BIO-RAD公司;超净工作台购自江苏安泰;PCR扩增仪购自美国ABI公司;凝胶成像仪购自SIM公司。

1.1.2 引物的设计与合成 根据GenBank中IGF-Ⅱ、IGF-Ⅱ R基因和内参基因甘油-3 磷酸脱氢酶(GAPDH)的cDNA序列,利用NCBI Blast和Primer 5.0 软件设计荧光定量PCR跨内含子特异性引物(表1),交由上海生工生物技术有限公司合成。

表 1 引物序列信息
Table 1 Primer sequence information

引物 Primer	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	片段长度/bp Amplicon length
IGF Ⅱ -F	ACCTCCAGTTTGTCTGTGG	134
IGF Ⅱ -R	ACATCCCTCTCGGACTTGG	
IGF Ⅱ R-F	ATGGCAGTCAGAGGGAAGC	189
IGF Ⅱ R-R	TTCTTATCCACGGCACACAC	
GAPDH-F	GCAAGTTCCACGCAGCACAG	249
GAPDH-R	GGTTCACGCCCATCACAA	

1.2 方法

1.2.1 试验设计 从陕西省布尔山羊良种繁育中心选取40只饲养条件一致、发育良好、体质量接近的5月龄布尔山羊杂种母山羊羔作为试验羊,随机分为处理组和对照组,每组20只。试验羊采用舍饲法圈养,试验前期处理组羊进行卵巢摘除,对照组不

摘除,每天 07:00、13:00、19:00 饲喂全价颗粒料和苜蓿干草,全天自由饮水。饲养 60 d 后,在处理组和对照组中各随机选取 5 只羊,采用颈动脉放血法进行屠宰,迅速采集肝脏、背最长肌、股二头肌,每个组织至少采集 5 份生物学样,用锡箔纸包好标记后投入液氮中带回实验室,用于 mRNA 的定量分析。

1.2.2 样品总 RNA 的提取 采用 Trizol 法提取试验组和对照组肝脏、背最长肌、股二头肌中的总 RNA,用核酸定量仪检测 A_{260}/A_{280} 的比值,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的质量,−80 ℃ 冰箱保存。

1.2.3 cDNA 第一条链的合成 以提取的组织样总 RNA 为模板,用 Prime Script RT Reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒 (TaKaRa) 合成 cDNA,−20 ℃ 保存。

1.2.4 IGF-Ⅱ、IGF-Ⅱ R 基因表达量的实时荧光定量分析 采用 SYBR Green 实时荧光定量 PCR 法检测 IGF-Ⅱ、IGF-Ⅱ R 基因的表达量,以 GAPDH 作为内参基因。将各组织样的 cDNA 稀释 10 倍,作为实时荧光定量的模板 cDNA 样,按照 SYBR Green 推荐的反应体系:SYBR Premix Ex Taq Ⅱ 2X 12.5 μL ,cDNA 2 μL ,上、下游引物各 1 μL ,Template cDNA 2 μL ,补 Rnase Freed ddH₂O 至 25 μL ,进行加样。实时荧光定量 PCR 反应程序:第 1 阶段 95 ℃ 预变性 45 s;第 2 阶段 95 ℃ 变性 10 s, T_m 退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,40 个循环;第 3 阶段 4 ℃ 保存。每个待测样品做 3 个平行试验。PCR 反应程序结束之后,根据熔解曲线判定引物的特异性,荧光信号的反应强度将转化为 IGF-Ⅱ、IGF-Ⅱ R 基因的循环阈值(C_t 值),根据各样品的 C_t 值,计算基因的 mRNA 相对表达量。

1.3 数据统计与分析

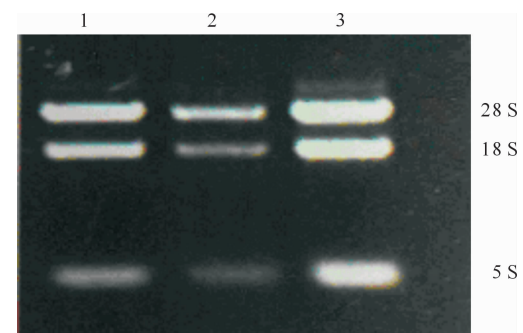
GAPDH 基因作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 IGF-Ⅱ、IGF-Ⅱ R 基因的 mRNA 相对表达量。IGF-Ⅱ 基因的相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$,其中 $\Delta\Delta C_t = (C_{t\text{处理组IGF-Ⅱ}} - C_{t\text{处理组GAPDH}}) - (C_{t\text{对照组IGF-Ⅱ}} - C_{t\text{对照组GAPDH}})$;同法计算 IGF-Ⅱ R 基因的 mRNA 相对表达量。试验所有数据的处理和计算均使用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,同时用 Microcal Origin 6.0 软件绘制变化趋势柱状图来加以验证。

2 结果与分析

2.1 RNA 完整性的检验

用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测试验组和对照组肝

脏、背最长肌、股二头肌的总 RNA,结果获得了 3 条清晰、无拖尾的条带,分别为 28S、18S、5S(图 1),表明 RNA 完整。经核酸定量仪检测,样品 A_{260}/A_{280} 的比值均在 1.8~2.1,表明 RNA 纯度符合实时荧光定量 PCR 要求,可用于下一步试验。



1~3 分别为肝脏、背最长肌、股二头肌的总 RNA 图谱
1—3 are agarose gel electrophoresis of total RNA in the liver
longissimus muscle and biceps femoris

图 1 布尔山羊杂种羊 3 种组织样中总 RNA 的
琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig.1 Agarose gel electrophoresis of total RNA in
three samples of hybrid ewes of Boar goat

2.2 基因定量表达的熔解曲线

将反转获得的 cDNA 模板对内参基因 (GAPDH) 和目的基因 (IGF-Ⅱ、IGF-Ⅱ R) 进行 PCR 扩增,软件自动绘制内参基因和目的基因的实时荧光定量熔解曲线,结果见图 2。由图 2 可知,内参基因和目的基因的 PCR 扩增产物熔解曲线均为锐利的单峰,排除非特异性产物和引物二聚体对试验结果的影响,同时说明引物有很好的特异性。因此,本研究建立的 IGF-Ⅱ、IGF-Ⅱ R 基因的 mRNA 相对定量检测方法是切实有效的。

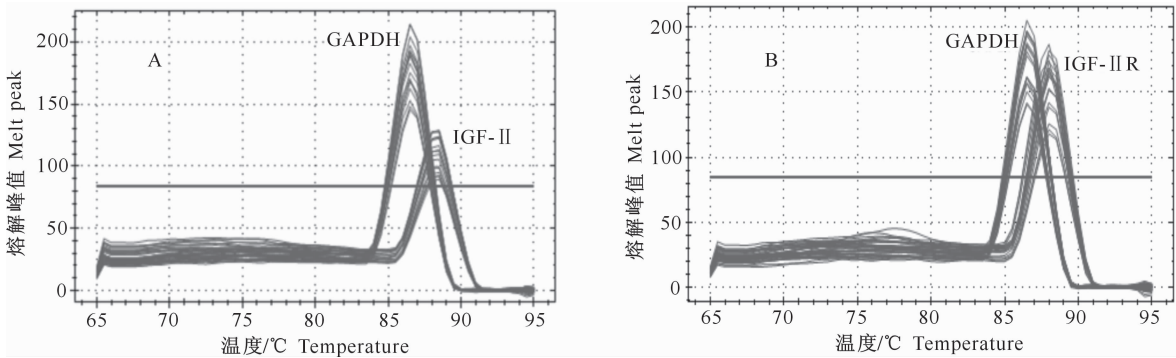
2.3 卵巢摘除后母羊组织中 IGF-Ⅱ 和 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 相对表达量的变化

2.3.1 IGF-Ⅱ 基因 由图 3 可知,处理组母羊背最长肌和股二头肌组织中 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 相对表达量均极显著高于对照组 ($P<0.01$),分别是对照组的 3.02 倍、6.53 倍;肝脏中 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 相对表达量低于对照组,是对照组的 73%,但差异不显著 ($P>0.05$)。由此可知,卵巢摘除后,母羊背最长肌、股二头肌中 IGF-Ⅱ 基因的 mRNA 表达量均极显著上调,而肝脏中表达量下调。

2.3.2 IGF-Ⅱ R 基因 由图 3 可知,处理组母羊背最长肌中 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 相对表达量显著低于对照组 ($P<0.05$),是对照组的 41%;而股二头肌

中 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 相对表达量也低于对照组,是对照组的 89%,但差异不显著($P>0.05$);肝脏中 IGF-Ⅱ R 基因相对表达量极显著高于对照组($P<0.01$),是对照组的 1.85 倍。由此可知,卵巢

摘除后,母羊背最长肌、股二头肌中 IGF-Ⅱ R 基因的 mRNA 表达量均下调,而肝脏中表达量显著上调。



A. IGF-Ⅱ 扩增产物溶解曲线;B. IGF-Ⅱ R 扩增产物溶解曲线
A. IGF-Ⅱ gene;B. IGF-Ⅱ R gene

图 2 IGF-Ⅱ 和 IGF-Ⅱ R 基因定量表达的溶解曲线

Fig. 2 Dissolution curves of relative mRNA expressions of IGF-Ⅱ and IGF-Ⅱ R

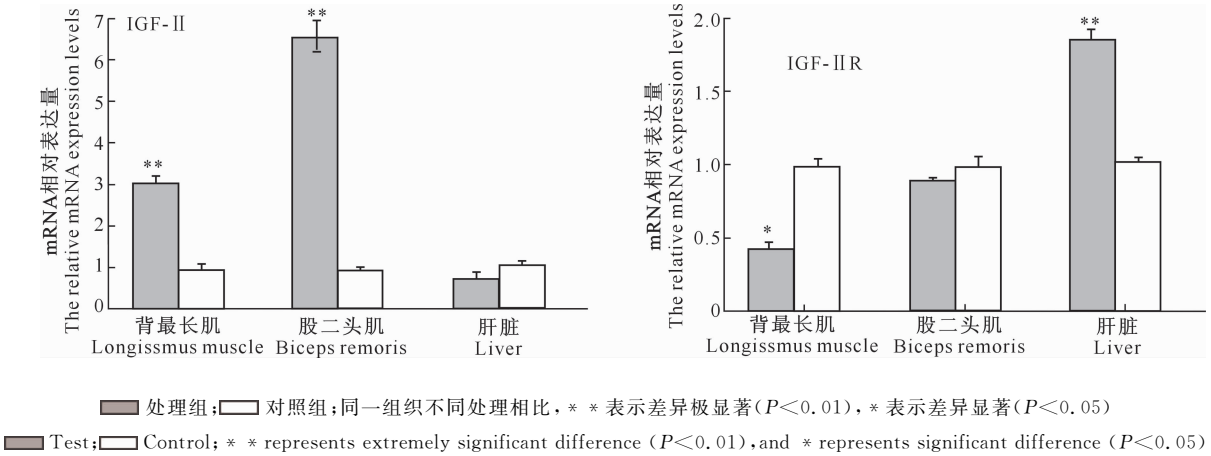


图 3 卵巢摘除对母羊部分组织中 IGF-Ⅱ 和 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 表达量的影响

Fig. 3 Influences of ovariectomy on relative mRNA expression levels of IGF-Ⅱ and IGF-Ⅱ R gene in ewes tissues

3 讨论

3.1 卵巢摘除对母羊组织中 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 表达的影响

IGF-Ⅱ 又称生长调节素 A(somatomedin A),是啮齿类动物中促进有丝分裂的主要生长因子。IGF-Ⅱ 影响肌肉发育,主要通过浓度依赖方式促进肌纤维细胞的增值分化^[8],也是肌细胞生长过程中的自分泌信号,直接影响肌细胞的增值分化^[9],除此之外还能调控动物脂肪沉积^[10]。

由于 IGF-Ⅱ 存在于啮齿类动物胚胎发生和胎儿发育过程中的各个组织,但胎儿出生后其活性迅速下降,因此用传统的 Northern 和半定量 PCR 等

方法无法对其进行精确定量。因此本研究通过建立 IGF-Ⅱ 基因的 mRNA 实时荧光定量 PCR 检测方法,对布尔山羊杂种母山羊羔不同组织中 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 表达量进行精确定量,研究结果表明,摘除卵巢母山羊羔的背最长肌和股二头肌中 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 相对表达量明显高于对照组,这说明摘除卵巢有利于根据需求改善动物的生长性能和脂肪沉积。由于 IGF-Ⅱ 水平随着卵巢摘除而升高,激活了体内某种调节机制,该机制通过提高 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 表达量以抗衡皮质醇的抑制作用,造成 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 表达量高于对照组,而其调节机制尚不明确,需要进一步研究。另外,试验组肝脏组织中 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 相对表达量低于对照组,但差异

不显著。原因可能有两点,其一,肝脏属合成和分泌 IGF-Ⅱ 的场所,由于卵巢摘除可能促使肝脏代偿分泌高水平 IGF-Ⅱ 供应其他组织器官,造成肝脏自身 IGF-Ⅱ 水平偏低;其二,肝脏中 IGF-Ⅱ 水平过低,加上对照组与试验组肝脏中 IGF-Ⅱ 所处的翻译阶段不同造成表达量微小差距。除此之外,引起肝脏 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 表达量不同,可能还有其他未知因素,具体原因需要后期更多试验加以验证。Oka 等^[11]在人类肝细胞癌中的研究认为,卵巢摘除后导致动物皮质醇水平的提高,间接提高了 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 相对表达量。黄遂柱等^[12]研究表明,摘除卵巢后雌性大鼠血液中雌激素水平显著降低,而皮质醇水平显著升高。皮质醇是糖皮质激素的重要成分,其对细胞增殖有抑制作用^[13]。Han 等^[10]研究认为猪背部脂肪沉积与 IGF-Ⅱ 有显著关系,同时在背膘较厚的绵羊血液中也发现较高水平的 IGF-Ⅱ。Deng 等^[14]研究发现,在胚胎时期猪肌肉和脂肪组织发育中 IGF-Ⅱ 大量表达。本试验结果表明,摘除卵巢促进背最长肌和股二头肌的 IGF-Ⅱ 表达,因此从侧面也暗示,摘除卵巢有利于根据需求改善动物的生长性能和脂肪沉积。

3.2 卵巢摘除对母羊组织中 IGF-Ⅱ R 基因 mRNA 表达的影响

IGFs 受体主要为 IGF-Ⅰ R 和 IGF-Ⅱ R,但两者功能和结构差异较大。IGF-Ⅰ R 是酪氨酸激酶家族的受体,与 IGF-Ⅰ 和 IGF-Ⅱ 结合后促进细胞的增值分化,同时还抑制细胞的凋亡^[15]。而 IGF-Ⅱ R 无酪氨酸激酶活性,但是结合 IGF-Ⅱ 的能力较强,与 IGF-Ⅱ 结合后引发 IGF-Ⅱ 内部变化,使其在溶酶体中降解,最终起抑制生长作用。因此,一旦 IGF-Ⅱ R 基因表达量降低或结构功能损坏,将引起细胞内负生长调节因子 TGF- β 1 水平的下降,其抑制作用减弱,机体细胞生长也将增强^[11,16]。本试验通过摘除卵巢发现,处理组布尔山羊杂种母山羊背最长肌、股二头肌中 IGF-Ⅱ R 基因表达量下降,一定程度上也可以说明卵巢摘除促进背最长肌和股二头肌的生长,有利于生产,这与安宁^[17]的研究结果一致,而其下降的原因可能是由于卵巢摘除,母山羊体内激素受到影响所致。由于卵巢是母山羊雌性激素的分泌源,卵巢的摘除直接影响孕酮和雌激素的分泌,进而使体内代谢和氧化作用也受到影响。Gordon 等^[18]发现,IGF-Ⅱ R 功能缺失的小鼠出现过度生长而在围产期死亡。然而在非人为干扰基因的前提下,IGF-Ⅱ R 的水平受多种因素影响,包括生长激素

水平、应激环境和营养水平等^[19-20]。史艳平^[21]研究表明,雌二醇水平与 IGF-Ⅱ R 水平呈负向相关性,因此卵巢摘除将导致 IGF-Ⅱ R 表达水平的下降,同时这也符合 IGF-Ⅱ 表达量的上升。

本研究中试验组羊肝脏中 IGF-Ⅱ 基因 mRNA 表达量显著降低,一方面,可能是卵巢摘除对母山羊羔机体产生代偿性增长应激机制,该机制通过调节降低肝脏中 IGF-Ⅱ R 水平以促进 IGF-Ⅱ 水平的表达,最终促进机体生长发育;另一方面,卵巢摘除后可能影响大脑皮质、下丘脑和垂体,从而间接影响中枢神经系统,导致骨骼肌细胞中 IGF-Ⅱ R 表达量下降,具体原因有待进一步研究验证。

【参考文献】

- [1] 宋天增,冯静,鲍宇红,等.去势对雄性岗巴绵羊血液睾酮浓度和生产性能的影响[J].西南农业学报,2015,28(4):1816-1818.
Song T Z, Feng J, Bao Y H, et al. Effects of castration on blood testosterone concentration and growth performance of male Gangba sheep [J]. Southwest China Journal of Agriculture Sciences, 2015, 28(4): 1816-1818.
- [2] 张国香,杨广才.母山羊去势肥育术[J].中国畜牧杂志,1998(1):43.
Zhang G X, Yang G C. Female goat castrated fattening [J]. Journal of Animal Science, 1998(1): 43.
- [3] Russo V C, Gluckman P D, Feldman E L, et al. The insulin-like growth factor system and its pleiotropic functions in brain [J]. Endocrine Reviews, 2005, 26(7): 916-943.
- [4] Van Laere A S, Nguyen M, Braunschweig M, et al. A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig [J]. Nature, 2003, 425(6960): 832-836.
- [5] Ren H, Accili D, Duan C. Hypoxia converts the myogenic action of insulin-like growth factors into mitogenic action by differentially regulating multiple signaling pathways [J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 107(13): 6653-6662.
- [6] Young L E, Fernandes K, Mcevoy T G, et al. Epigenetic change in IGF2R is associated with fetal overgrowth after sheep embryo culture [J]. Nature Genetics, 2001, 27(2): 153-164.
- [7] Wylie A A, Pulford D J, Mcvie-Wylie A J, et al. Tissue-specific inactivation of murine M6P/IGF2R [J]. American Journal of Pathology, 2003, 162(1): 321-328.
- [8] Florini J R, Ewton D Z, Falen S L, et al. Biphasic concentration dependency of stimulation of myoblast differentiation by somatomedins [J]. American Journal of Physiology, 1986, 250(5): C771-C778.
- [9] Gerrard D E, Okamura C S, Ranalletta M A, et al. Developmental expression and location of IGF-I and IGF-Ⅱ mRNA and protein in skeletal muscle [J]. Journal of Animal Science, 1998, 76(4): 1004-1011.
- [10] Han X, Yang H, Jiang T, et al. Investigation of four candidate

genes (IGF2,JHDM1A,COPB1 and TEF1) for growth rate and backfat thickness traits on SSC2q in Large White pigs [J]. Molecular Biology Reports,2014,41(1):309-315.

[11] Oka Y,Waterland R A,Killian J K,et al. M6P/IGF2R,tumor suppressor gene mutated in hepatocellular carcinomas in Japan [J]. Hepatology,2002,35(5):1153-1163.

[12] 黄遂柱,上官峰,赵永强. 补充雌激素对卵巢切除大鼠血清皮质醇和 IGF-Ⅰ 的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志,2004,10(4):443-444.

Huang S Z,Shangguan F,Zhao Y Q. Effects of ovariectomy and estrogen replacement therapy on serum cortisol and IGF-Ⅰ levels in rats [J]. Chinese Journal of Osteoporosis,2004,10(4):443-444.

[13] 王 秀. FGR 孕妇血清皮质醇与胎盘组织 IGF-Ⅰ 表达水平关系研究 [D]. 西安:西安交通大学,2003.

Wang X. The relationship between pregnancy serum cortisol concentration and placental tissue IGF-Ⅰ expression level in fetal growth restriction [D]. Xi'an:Xi'an Jiaotong University,2003.

[14] Deng Z H,Liu S Z,Tan J. IGF-1R/IGF-2R mRNA expression in the posterior sclera of chicken form-deprivation myopia [J]. International Journal of Ophthalmology,2005,5(5):929-931.

[15] Zygmunt M,Mckinnon T,Herr F,et al. HCG increases trophoblast migration in vitro via the insulin-like growth factor-Ⅱ / mannose-6 phosphate receptor [J]. Molecular Human Reproduction,2005,11(4):261-267.

[16] Hong S J, Kang K M,Choi B O,et al. Clinical significance of loss of heterozygosity for M6P/IGF2R in patients with primary hepatocellular carcinoma [J]. World Journal of Gastroenterology Wjg,2008,14(9):1394-1398.

[17] 安 宁. 卵巢摘除对羔羊产肉性能和部分组织 GHR、IGF-Ⅰ、IGF-Ⅰ R 基因 mRNA 表达量的影响 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2014.

An N. Effects of ovariectomy on meat production and the mRNA expression levels of GHR, IGF-Ⅰ, IGF-Ⅰ R genes in some tissues of Doe kids [D]. Yangling,Shaanxi:Northwest A&F University,2014.

[18] Gordon P V,Paxton J B,Fox N S. The cellular repressor of E1A-stimulated genes mediates glucocorticoid-induced loss of the type-2 IGF receptor in ileal epithelial cells [J]. Journal of Endocrinology,2005,185(2):265-273.

[19] Lee J Y,Jin D K. The effect of growth hormone on mRNA expression of the GABA B1 receptor subunit and GH/IGF axis genes in a mouse model of prader-willi syndrome [J]. Journal of Mucopolysaccharidosis and Rare Disease,2015,1(2):54-59.

[20] Hawsawi Rabaa Y M. Role of insulin-like growth factor (IGF) axis in the development of tamoxifen resistance in breast cancer epithelial cells [D]. Leeds:University of Leeds,2015.

[21] 史艳平. 人子宫平滑肌瘤组织 TSP-Ⅰ 和 IGF-Ⅱ 蛋白的表达与雌二醇水平的相关性研究 [D]. 郑州:郑州大学,2011.

Shi Y P. Correlation research on the expression of TSP-Ⅰ, IGF-Ⅱ, contents of E2 and pathogenesis of hysterymyoma [D]. Zhengzhou:Zhengzhou University,2011.