

韦 敏, 汝文文, 吕 晔. 衰老情况下大鼠卵巢及子宫组织胰岛素样生长因子(IGFs)系统基因的表达变化[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 21-24.

衰老情况下大鼠卵巢及子宫组织胰岛素样生长因子(IGFs)系统基因的表达变化

韦 敏, 汝文文, 吕 晔

(江苏省中国科学院植物研究所, 江苏南京 210014)

摘要:利用 RT² Profiler™ PCR Array Rat Insulin Signaling Pathway(PARN-030A)芯片实时定量 PCR 扩增大鼠卵巢及子宫组织胰岛素样生长因子(IGFs)系统基因的表达变化, 84 个基因的检测结果表明, 卵巢组织共筛选出差异表达基因 13 个, 其中上调基因 3 个, 下调基因 10 个; 子宫组织共筛选出差异表达基因 22 个, 其中上调基因 5 个, 下调基因 17 个。这些差异基因与胰岛素抵抗的发生可能存在一定的相关性。

关键词:衰老; 基因芯片; 卵巢; 子宫; 胰岛素样生长因子

中图分类号: Q786 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0021-03

胰岛素样生长因子(IGFs)系统由一组配体、受体和结合蛋白组成, 配体包括胰岛素、胰岛素样生长因子 I 和 II(IGF-I、IGF-II), 受体包括胰岛素受体、胰岛素样生长因子 I 和 II 受体(IGF-IR、IGF-IIR), 结合蛋白共 6 种, 即胰岛素样生长因子结合蛋白 1~6(IGFBP1~6), 它们可为位于细胞外和细胞外周间隙的 IGFs 提供特异结合位点并调节 IGFs 和相应受体之间的相互作用。胰岛素样生长因子系统对胚胎^[1]、神经^[2]、骨骼肌^[3]和骨骼的发育^[4]、细胞增殖和转化^[5]等具有极其重要的作用。多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是育龄期妇女最常见的生殖内分泌疾病之一, 临床以持续无排卵、雄激素分泌过多、胰岛素抵抗等为主要特征。近年大量研究表明, PCOS 的卵巢功能异常与其局部胰岛素抵抗有关^[6]; 但关于衰老期卵巢及子宫组织与胰岛素关系却未有研究。

RT² Profiler™ PCR Array Rat Insulin Signaling Pathway(PARN-030A)芯片是专为荧光定量 PCR 设计的 96 孔微流卡, 每孔中预置了 Super Array 基因表达试剂, 即经过优化设计用以扩增目的的 cDNA 片段的上、下游引物和相关的荧光标记探针。此芯片可以同时测定 84 个与胰岛素反应有关的关键基因。该试剂包含了与胰岛素受体有关的基因和胰岛素信号通路的靶基因, 糖类、脂类、蛋白代谢有关的基因和相关的生物学反应有关的基因也包括在内。因此, 笔者所在的课题组首次利用 RT² Profiler™ PCR Array Rat Insulin Signaling Pathway(PARN-030A)芯片实时定量 PCR 扩增大鼠卵巢及子宫组织在衰老进程中 IGFs 系统基因的表达变化, 并分析不同基因的表达差异对卵巢及子宫组织衰老的影响, 为研究 IGFs 系统基因表达的调控机制及卵巢和子宫的衰老特性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

SPF 级 SD 雌性大鼠。4 月龄雌性大鼠(正常组), (200 ± 20)g/只; 14 月龄雌性大鼠(衰老组), (270 ± 30)g/只, 均由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供, 生产许可证号为 SCXK(军)2007-004, 微生物控制等级一级。喂养在 12 h 光照、12 h 黑暗的条件下, 自由摄食饮水。试验前将动物置于室内, 适应环境 1 周, 室温控制在 22~25℃。

1.2 试剂

RT² Profiler™ PCR Array Rat Insulin Signaling Pathway(PARN-030A)芯片; TRIZOL 试剂(Invitrogen); 三氯甲烷(上海化学试剂有限公司); 异丙醇(上海化学试剂有限公司); 100% 乙醇(上海化学试剂有限公司); 75% 乙醇(以 DEPC 处理的水配制); 无 RNA 酶的水; 无 RNA 酶的糖原; RNeasy® MinElute™ 纯化试剂盒(Qiagen); Super Array PCR 混合液(Super Array); RNA 逆转录试剂盒(Super Array); 6、96 孔细胞培养板(Griner); 酶标仪(Tecan); 实时定量 PCR 仪(Applied Biosystems)。

1.3 试验方法

1.3.1 组织样本的获取 采用自然衰老的初老模型, 选取 11 只 14 月龄雌性 SD 大鼠, 适应性喂养 1 周, 进行阴道细胞学涂片, 连续观察 4 个动情周期, 以阴道细胞学表现动情周期延长、之后持续动情、反复假妊娠细胞相时作为雌性老龄模型成功。另取 11 只 4 月龄雌性大鼠为正常组。选用动情期脱颈椎处死大鼠, 剥离动物的卵巢、子宫组织, 对组织样本进行液氮保持, 备用。

1.3.2 RNA 的抽提与纯化 按照 Trizol 试剂的操作说明进行卵巢、子宫组织的总 RNA 提取, 贮存于 -70℃。取 DNase I 消化 RNA 样品, 用 RNeasy® MinElute™ 纯化试剂盒纯化回收 RNA, 去除 RNA 中可能存在的 DNA 污染。以 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计 $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 鉴定 RNA 纯度和浓度。RNA 提取和纯化过程使用的移液器头、EP 管和去离子水均经 0.1% DEPC 处理, 容器经高温干烤, 以防止

收稿日期: 2012-11-23

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 30973927)。

作者简介: 韦 敏(1977—), 女, 湖南沅陵人, 博士, 助理研究员, 主要从事中药活性药物开发的研究工作。E-mail: wn96403@sina.com。

RNase 的污染。

1.3.3 荧光定量 RT-PCR 取 1.5 μg 纯化后总 RNA,按试剂盒说明书逆转录合成单链 cDNA 模板,存于 -20 ℃ 下,备用。按照 RT² Profiler™ PCR Array 说明,在 96 孔板中加入 PCR 所需各种试剂,置于实时定量 PCR 仪 ABI PRISM 7700 system 上进行 PCR 反应。95 ℃ 10 min 激活 DNA 聚合酶;随后按以下参数进行 PCR 扩增:95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,40 个循环。PCR 完成后经自动分析,查看每个基因的扩增情况,导出相应的域值循环数(C_T)。

1.3.4 数据分析 以看家基因(HK 基因) Rplp1、Rpl13a、Ldha 为阳性内对照基因,校正 cDNA 模板的细胞拷贝数,采用 2^{-ΔΔC_T}方法计算相对量。

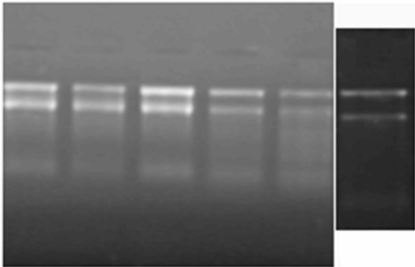
$\Delta\Delta C_T(\text{目标基因}) = \Delta C_T(\text{目标基因}) - \Delta C_T(\text{同一样本 HK 基因})$;

$\Delta\Delta C_T(\text{目标基因}) = \Delta C_T(\text{衰老组目标基因}) - \Delta C_T(\text{对照组目标基因})$ 。

2 结果与分析

2.1 RNA 质量控制结果

使用 NanDrop® ND-1000 生物分析仪鉴定 4 份样品的 RNA 质量。分别测定 28S 与 18S 峰值的面积比值、D_{260 nm}/D_{280 nm}、质量浓度,鉴定结果显示样品 RNA 均无明显降解,基本符合基因芯片测定的要求(图 1)。



M1—衰老大鼠(14 月龄 SD 鼠)卵巢组织; C1—正常大鼠(4 月龄 SD 鼠)卵巢组织; M2—衰老大鼠(14 月龄 SD 鼠)子宫组织; C2—正常大鼠(4 月龄 SD 鼠)子宫组织

图1 衰老前后卵巢及子宫组织RNA的电泳结果

2.2 芯片杂交质控结果

基因组 DNA 控制显示无基因组 DNA 污染,逆转录控制和阳性 PCR 控制显示 RNA 纯度很高,完全能满足实时定量 PCR 要求。

2.3 芯片杂交结果

以 2^{-ΔΔC_T}(衰老组)/2^{-ΔΔC_T}(正常组)作为评价标准,若大于 2,则基因表达水平上调;若小于 0.5,则下调,为了更好显示下调倍量,对于小于 0.5 的 2^{-ΔΔC_T}(衰老组)/2^{-ΔΔC_T}(正常组)值取倒数,前面用“-”表示下调。卵巢组织结果(表 1、表 2)显示,3 个看家基因在衰老前后表达水平无明显变化;在检测的 84 个基因中,共筛选出差异表达基因 13 个,其中上调基因为 3 个,下调基因为 10 个。子宫组织结果(表 3、表 4)显示,3 个看家基因在衰老前后表达水平无明显变化;在检测的 89 个基因中,共筛选出差异表达基因 22 个,其中上调基因为 5 个,下调基因为 17 个。

表 1 衰老后卵巢组织表达上调的基因

功能性基因分组	基因名称	2 ^{-ΔΔC_T} (衰老组)/ 2 ^{-ΔΔC_T} (正常组)
胰岛素受体蛋白相关基因	<i>Dok3</i>	3.11
葡萄糖代谢	<i>GLUKA、RNGK2</i>	3.85
胰岛素和受体	<i>4PS、IRS-2</i>	2.17

表 2 衰老后卵巢组织表达下调的基因

功能性基因分组	基因名称	2 ^{-ΔΔC_T} (衰老组)/ 2 ^{-ΔΔC_T} (正常组)
SREBP1 靶基因	<i>ACCI、Acac</i>	-2.33
胰岛素受体蛋白相关基因	<i>Dok-1</i>	-2.25
PI-3 激酶途径靶基因	<i>Dusp14</i>	-6.88
MAPK 途径靶基因	<i>c-fos</i>	-2.19
葡萄糖代谢	<i>HK2</i>	-2.49
胰岛素生长因子和受体	<i>IBP1、IGF-BP25、IGFBA</i>	-3.85
胰岛素和受体	<i>Ins1</i>	-13.84
胰岛素信号初始靶基因	<i>PRLB、PRLSD1、Pr11a1、Prol、RATPRLSD1、RNPROL</i>	-2.54
PI-3 激酶途径靶基因	<i>PAIIA、Pai1、Pai1aa、Planh、RATPAIIA</i>	-2.14
胰岛素信号第二效应靶基因	<i>Tgn</i>	-2.94

表 3 衰老后子宫组织表达上调的基因

功能性基因分组	基因名称	2 ^{-ΔΔC_T} (衰老组)/ 2 ^{-ΔΔC_T} (正常组)
MAPK 途径靶基因	<i>c-fos</i>	3.65
胰岛素和受体	<i>Ins2</i>	2.40
MAPK 途径靶基因	<i>LDLRA</i>	3.05
MAPK 途径靶基因	<i>Nos2a、iNos</i>	18.89
胰岛素信号初始靶基因	<i>PRLB、PRLSD1、Pr11a1、Prol、RATPRLSD1、RNPROL</i>	17.16

表 4 衰老后子宫组织表达下调的基因

功能性基因分组	基因名称	2 ^{-ΔΔC_T} (衰老组)/ 2 ^{-ΔΔC_T} (正常组)
SREBP1 靶基因	<i>ACCI、Acac</i>	-2.09
PPARγ 靶基因	<i>Adn、Df、EVE</i>	-3.77
PI-3 激酶途径靶基因	<i>Adrd1</i>	-2.81
PPARγ 靶基因	<i>Aebp1</i>	-2.71
胰岛素信号初始靶基因	<i>DBPCEP</i>	-2.38
脂肪酸代谢	<i>Fasn</i>	-2.14
SREBP1 靶基因	<i>G6Pase、MGC93613</i>	-3.14
胰岛素信号初始靶基因	<i>GLP-1</i>	-2.37
葡萄糖代谢	<i>GLUKA、RNGK2</i>	-5.18
胰岛素生长因子和受体	<i>IBP1、IGF-BP25、IGFBA</i>	-6.58
胰岛素和受体	<i>Ins1</i>	-13.44
胰岛素信号初始靶基因	<i>OB、obese</i>	-34.71
胰岛素信号第二效应靶基因	<i>NPY02、RATNPY、RATNPY02</i>	-2.68
PPARγ 靶基因	<i>Retn</i>	-100.19
SH3/SH2 衔接蛋白	<i>RGDI566234</i>	-2.31
PI-3 激酶途径靶基因	<i>MGC108736、Ucp、Ucpa、Uncp</i>	-4.95
PI-3 激酶途径靶基因	<i>VEGF164、Vegf</i>	-2.01

3 结论与讨论

目前,国内外西医研究多认为,卵巢功能衰老与遗传、免疫、代谢、病毒感染以及医源性等因素有关。本研究通过基因芯片技术筛选自然衰老大鼠与正常大鼠的卵巢及子宫组织胰岛素相关基因表达谱的变化,在基因水平对 2 个部位组织衰老与胰岛素样生长因子系统基因关系进行探讨,结果发现,2 个部位组织衰退后,其差异表达基因主要集中于胰岛素受体相关蛋白及信号转导方面(表 5),这些基因与胰岛素抵抗的发生可能存在一定的相关性。

表 5 差异表达的基因分类

基因功能	卵巢基因数(个)	子宫基因数(个)
胰岛素受体相关蛋白	5	4
信号转导	5	11
SREBP1 目标基因	1	2
PPAR γ 目标基因	0	3
物质代谢	2	2
转录相关	0	0
细胞生长与分化	0	0

3.1 胰岛素信号

本试验结果显示,机体衰老后,卵巢组织及子宫组织中 Insulin 1 基因均下调,可见机体衰老减弱了胰岛素的表达;机体衰老后,卵巢组织及子宫组织中 Insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) 基因均下调,IGFBP-1 别称胎盘蛋白-12, α 1-妊娠相关内膜球蛋白,分子量 25 kD,是胰岛素和孕酮依赖蛋白,因其磷酸化程度不同而有 5 种异构体^[7],是一种“内分泌”因子,通过调节血清胰岛素样生长因子 I 的生物利用度来调节 IGF 介导的组织代谢;作为一种自分泌和旁分泌因子,在女性生殖系统中起重要作用^[8-9],可见机体衰老后减弱了胰岛素的代谢。

3.2 信号转导

主要集中在蛋白激酶信号传导途径(mitogen activated protein kinase signalling pathway, MAPK)和磷酸肌醇-3 激酶途径(phosphatidylinositol 3-kinase signalling pathway, PI3-K)。(1)PI3-K 途径^[10]。胰岛素的生物信号通过与受体结合,改变 INSR 的空间构象,使酪氨酸激酶区激活并自身磷酸化,而后磷酸化 IRS-1,磷酸化的 IRS-1 与磷脂酰肌醇 3-激酶的 p85 亚单位更紧密地结合,使其具备磷酸化活性,将 4,5-二磷脂酰肌醇转化为 3,4,5-三磷脂酰肌醇,从而逐级放大胰岛素的信息,实现生物学效应。(2)MAPK 途径^[11]作为细胞控制开关,介导细胞外刺激进入细胞内翻译后和转录反应。MAPK 信号转导通路采用高度保守的三级激酶级联反应传递信号,MAPK 被激活后可以移至细胞核内,通过磷酸化转录因子、细胞骨架相关蛋白和其他酶类等多种蛋白底物而参与细胞生长发育、增殖、分裂、凋亡及应激反应等多种细胞功能的调控。本试验结果显示,机体衰老后卵巢组织及子宫组织中 PI3-K 途径相关基因均下调,可见机体衰老后减弱了胰岛素的信号传导;而 MAPK 途径中 *c-fos* (原癌基因)在卵巢组织中下调,而在子宫组织中上调,可见子宫相关癌症发

生率提高。另 Nitric oxide synthase 2 子宫组织表达上调,炎症发生可能性加大,说明可能引起胰岛素抵抗^[12]。

3.3 SREBP1^[13]

SREBP1 是膜结合的转录因子,参与脂质自稳态的许多作用(胆固醇、脂肪酸、甘油三酯和磷脂的合成/摄取)。SREBP1 在内质网上合成,需要被转运到高尔基体并经过一系列蛋白水解后才能到核内发挥作用,未成熟时在细胞浆上表达,水解后的成熟片段在细胞核上表达。本试验结果显示,机体衰老后,卵巢组织及子宫组织中 SREBP1 相关基因均下调,说明可能发生胰岛素抵抗,脂质沉积,降低脂质代谢。

3.4 PPAR γ

PPAR γ 在调控脂肪细胞分化和多种代谢(糖、脂肪、能量代谢等)中起重要作用。近年发现,PPAR γ 基因的多态性及对脂肪细胞因子的调控作用与 PCOS IR 的发生密切相关,而用噻唑烷二酮类药物激活 PPAR γ 后可以改善 PCOS IR 的研究结果进一步说明 PPAR γ 的作用可能是 PCOS IR 多种形成机制中的重要途径之一^[14]。本试验结果显示,机体衰老后,PPAR γ 在卵巢组织中表达无变化,而在子宫组织中的表达下调,减弱了胰岛素的信号转导。

3.5 物质代谢

物质代谢包括脂肪酸代谢与葡萄糖代谢。本试验结果显示,机体衰老后,葡萄糖激酶(glucokinase, GCK)^[15]在卵巢组织中表达上调,而在子宫组织中表达下调。GCK 主要在肝细胞和胰岛 β 细胞中表达,GCK 催化的葡萄糖磷酸化是这 2 类细胞中糖代谢的第一个限速部位。在胰岛 β 细胞中,通过加速三羧酸循环而产生足量的 ATP, [ATP]与[AMP]浓度比升高使 K^+ 通道关闭而 Ca^{2+} 通道打开,大量 Ca^{2+} 内流激活 G 蛋白,进而激活各种激酶的级联效应,促使胰岛素分泌。所以,GCK 功能障碍或表达减少,可以使胰岛 β 细胞对血糖的敏感性降低并使胰岛素分泌减少。卵巢组织上调 GCK 活性,促进糖原合成,抑制糖异生,可能发生胰岛素抵抗。

本研究获取了大量的基因数据,下一步将对基因芯片的结果进行深入研究,以便更好地分析差异基因在卵巢及子宫衰老中的作用,阐明胰岛素抵抗可能的发生机制。

参考文献:

[1] 罗文祥,祝 诚. 胰岛素样生长因子-I (IGF-I)、IGF 结合蛋白-2 和 LH 受体 mRNA 在卵泡闭锁过程中的表达及调节[J]. 中国科学: C 辑, 2000, 30(3): 294-299.

[2] 张凤军,王丽红,刘 真,等. 胰岛素样生长因子-1 对背根神经节神经元谷氨酸损伤的保护作用[J]. 山东大学学报: 医学版, 2009, 47(4): 38-41, 45.

[3] 韩素萍,葛仁锴. IGFs 对骨骼肌的作用及运动对其影响[J]. 辽宁体育科技, 2006, 28(3): 17-18.

[4] 鲜成玉,王远亮,张兵兵,等. 应力作用下成骨细胞内 IGF-1 的剪接变异及表达[J]. 科学通报, 2006, 51(20): 2399-2403.

[5] 孙丽华,欧阳晓平,谷 伟,等. 胰岛素样生长因子对 COPD 大鼠膈肌凋亡的保护作用及对肺功能的影响[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2009, 8(5): 441-445.

[6] Schuring A N, Schulte N, Sonntag B, et al. Androgens and insulin - two key players in polycystic ovary syndrome[J]. Gynakol Geburtshilfliche Rundsch, 2008, 48(1): 9-15.

贺生中,狄和双,郑筱峰,等. 贵宾犬 *FSH β* 基因多态性与产仔数的相关性分析[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):24-26.

贵宾犬 *FSH β* 基因多态性与产仔数的相关性分析

贺生中,狄和双,郑筱峰,蒋珊珊,王丽华

(江苏畜牧兽医职业技术学院,江苏泰州 225300)

摘要:采用 PCR-SNP 的方法检测贵宾犬 *FSH β* 基因第 1 内含子、第 2 外显子中存在的点突变,并分析该基因对产仔数的影响。结果表明:在 *FSH β* 基因内含子和外显子中分别发现了 C979G 和 A257G 突变,外显子的 A→G 突变未影响氨基酸序列。内含子中的突变以 CG 型的频率最高,为 0.488 4,其次为 CC 型;在群体中 C 等位基因频率比 G 等位基因频率高。外显子中的突变以 AG 型的频率最高,为 0.627 9,其次为 GG 型;在群体中 G 等位基因频率比 A 等位基因频率高。贵宾犬群体纯合度为 0.509 7,多态信息含量为 0.370 1。在内含子中,CG 型产仔数比 CC 型高 0.67 条;在外显子中 AG 型产仔数比 GG 型高 0.76 条。但 2 个点突变的基因型与其他基因型相比产仔数差异不显著 ($P > 0.05$),表明 *FSH β* 基因多态与贵宾犬的产仔数不具有显著相关性。

关键词:犬;*FSH β* 基因;产仔数

中图分类号: S829.22 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0024-03

玩具贵宾犬作为小型室内玩赏犬深受人们的喜爱,市场需求量也较大。但是玩具贵宾犬体型较小,每胎产仔数约为 3 只。近年来在经济利益的驱使下,贵宾犬被大量繁殖,小群体近亲繁育现象导致贵宾犬良莠不齐,繁殖力降低。因此,提高贵宾犬的繁殖能力,建立高繁殖力贵宾犬的育种核心群,可以有效地满足市场的需求。近年来,在动物常规育种的基础上,越来越多的研究者尝试了采用候选基因法作为标记辅助选择依据,快速提高所选择的性状,并取得了一些成效。促卵泡素(follicle-stimulating hormone, FSH)是下丘脑-垂体-性腺轴中的主要激素之一,能促进颗粒细胞增生,刺激类固醇生产,刺激卵泡的生长和发育,影响生长卵泡的数量,激发卵泡的最后成熟,诱发排卵,在哺乳动物繁殖过程中起重要作用^[1]。FSH 由 α 、 β 2 个亚基组成,其中 β 亚基参加了受体结合的过程^[2]。到目前为止,*FSH β* 基因多态性与猪、牛、羊等

动物的生产性能的关系研究较多^[3-8],而犬类的研究报道甚少。本研究以 PCR-SNP 的方法检测玩具贵宾犬 *FSH β* 中潜在的点突变,分析点突变引起的等位基因在群体中的分布情况,并分析产仔数在不同基因型之间的差异,为快速、大量繁殖玩具贵宾犬提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以江苏省泰州市某宠物犬扩繁基地中饲养的 43 只玩具贵宾犬为试验素材。腿部静脉采血 5 mL,采用肝素抗凝,离心去除大部分血浆,采用血液基因组提取试剂盒提取 DNA,直接用于 PCR 扩增。

1.2 PCR 引物的设计

根据 GenBank 中公布的犬 *FSH β* 基因序列(No. HQ385979)在第 1 内含子末端和第 2 外显子末端设计一对引物 FSH1, F:TTCCCGAATGCTTTAGCCTGACTC, R:TTCCTGCTGCGGCTCTCCGAAG,扩增长度 277 bp,退火温度 58 ℃,扩增 *FSH β* 基因的第 2 外显子序列。引物由上海桑尼生物科技有限公司合成。

1.3 PCR 扩增

PCR 扩增体系为 50 μ L:10 \times PCR buffer(without Mg^{2+})

kinase;conservation of a three-kinase module from yeast to human [J]. Physiol Rev,1999,79(1):143-180.

[12] 廖夏林,金卫根. 内源性一氧化氮的生物学效应[J]. 曲阜师范大学学报:自然科学版,2000,26(4):83-84.

[13] 郝军,石宏,赵松,等. 靶向抑制人 SREBP-1 基因对高糖刺激下人肾小管上皮细胞脂滴形成的影响[J]. 中国药理学通报,2009,25(3):371-377.

[14] 王玉霞,孙永玉. PPAR γ 与多囊卵巢综合征胰岛素抵抗的研究[J]. 国外医学:妇幼保健分册,2004,15(3):185-187.

[15] Hardouin N, Nagy A. Gene-trap-based target site for cre-mediated transgenic insertion [J]. Genesis, 2000, 26(4):245-252.

收稿日期:2012-11-22

基金项目:江苏畜牧兽医职业技术学院院级课题(编号:ZD201006、ZD200910)。

作者简介:贺生中(1962—),男,江苏兴化人,教授,主要从事动物医学研究。E-mail:szh88@hotmail.com。

通信作者:王丽华,副教授,主要从事畜牧研究。E-mail:jstzwlh2008@163.com。

[7] Rutanen E M, Koistinen R W, Wahlstrom T, et al. Synthesis of placental protein 12 by human deciduas [J]. Endocrinology, 1985, 116(4):304-309.

[8] Lee P D, Giudice L C, Conover C A, et al. Insulin-like growth factor binding protein-1: recent findings and new directions [J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1997, 216(3):319-357.

[9] Hayashi K, Carpenter K D, Welsh T H Jr, et al. The IGF system in the neonatal ovine uterus [J]. Reproduction, 2005, 129(3):337-347.

[10] 王冰,李宏亮,杨文英. 胰岛素信号转导通路与 β 细胞分泌功能的关系及机制 [J]. 中日友好医院学报, 2008, 22(1):57-58.

[11] Widmann C, Gibson S, Jarpe M B, et al. Mitogen-activated protein