
*
* 综 述 *
*

鱼类生长激素的分离、鉴定及其 生理功能研究的进展*

徐 斌 张培军[†] 李德尚

(青岛海洋大学国家教委水产养殖开放研究实验室, 青岛 266003)

[†](中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室, 青岛 266071)

提要 主要对 80 年代末至 90 年代中期国际有关鱼类生长激素的分离、鉴定和生理功能研究的进展予以综述。资料表明, 蓝鲨、罗非鱼等 21 种鱼类的生长激素(GH)已被分离, 并阐明鱼类 GH 一般是在碱性条件下, 将脑垂体匀浆, 或取其体外培养的分泌液, 经凝胶过滤和反相高效液相色谱纯化得到; 鱼类 GH 的生物活性多以具有促进幼鱼生长的特性来鉴定。最新研究表明, 鱼类生长激素的主要生理功能为: 具有生长促进作用、低渗调控作用, 参与应激反应, 与胰岛素样生长因子相互作用, 通过垂体-性腺轴发挥对鱼类性腺类固醇生成的调控作用, 增强甲状腺的活性, 促进周边代谢中 T_4 转化为 T_3 等。

关键词 鱼类 生长激素 分离 鉴定 生理功能

人类对脊椎动物生长激素(Growth Hormone, GH)的认识始于本世纪 30 年代, 50 年代之后, 开始对低等脊椎动物(鱼类)生长激素进行研究。现已证实, GH 是调节鱼类机体生长发育最重要的内分泌激素。目前, 关于 GH 对鱼类生理作用的一些研究报道已证实, 其具有多种生理功能。本文报道鱼类 GH 的分离、鉴定及其生理功能的研究近况, 以期为进一步发展我国鱼类生长激素研究及其应用提供借鉴。

1 鱼类生长激素分离与鉴定研究的进展

1.1 鱼类生长激素的分离

同其他脊椎动物一样, 鱼类 GH 是由中腺垂体的 GH 细胞分泌的一种多肽激素。近年来, 采用免疫细胞化学和亚显微观察, 将鱼类 GH 细胞准确定位于垂体远端部分的嗜酸性细胞。多数鱼类 GH 的分离纯化, 一般采用将鱼的脑垂体匀浆或其体外培养的分泌液在碱性条件下(pH=9—10), 经凝胶过滤, 离子交换层析和反相高效液相色谱分离, 可得到高纯度的 GH。迄今, 已有蓝鲨、罗非鱼和白鲟、鲤、大麻哈鱼、鳊鲌、银大麻哈鱼、狐鲮、黄鳍金枪鱼、大鳞大麻哈鱼、大西洋鲑、大西洋鲑、虹鳟、红大麻哈鱼、拟庸鲈、海鲈、斑

* 国家自然科学基金资助项目, 39470553 号。徐 斌, 男, 出生于 1963 年 11 月, 博士, 副教授。

段存明博士(美国北卡罗来纳大学)在鱼类内分泌学方面给予热心帮助和指导, 并提供鱼类 GH 方面的资料; 孙玉贤博士(新西兰林肯大学)提供哺乳类 GH 方面的资料, 均此一并致谢。

收稿日期: 1995 年 8 月 30 日, 接受日期: 1996 年 4 月 5 日。

点叉尾鲮、弓鳍鱼、牙鲆、金头鲷和鲈¹⁾等 21 种鱼的 GH 被分离纯化,这就为研究鱼类 GH 的结构与功能奠定了基础。

1.2 鱼类生长激素生物活性鉴定研究进展

GH, 在高等脊椎动物是通过测定促进鼠胫骨生长的方法来验证其生物活性的, 但除板鳃鱼纲、肺鱼亚纲、软骨鱼纲和全头类等鱼的 GH 能促进鼠胫骨生长外, 其它硬骨鱼类均无此作用, 因此, 不能用此法鉴定鱼类 GH 的生物活性。目前, 经过分离纯化的鱼类 GH, 通常采用将其多次注射入鱼体, 3—4 周后检查是否具有促进幼鱼体重或体长生长的作用, 以确定其生物活性。最近证实, 鱼类 GH 具有促进鳗鲡和虹鳟周边代谢中 T_4 转化为 T_3 的作用; 人 GH(hGH) 处理虹鳟有增加其肝脏 5'-单脱碘酶活力和血清 T_3 水平的作用。据此, Nagler 等(1991 b)利用 GH 使血清中 T_3 水平提高的方法, 建立了快速、灵敏、专一地测定鱼类 GH 生物活性的方法, 并能排除其它激素(如 TSH 等)的干扰, 将鉴定时间缩短为 3d。此外, 也可通过鱼类 GH 有促进鳗鲡等角鳃软骨对硫酸盐的吸收, 以及与特异性抗体产生免疫学反应或免疫细胞化学染色的方法, 鉴定鱼类 GH 的生物活性。

2 鱼类生长激素生理功能的研究进展

80 年代以来, 对鱼类 GH 生理功能研究进展较快。现已证实, 鱼类 GH 除与哺乳类 GH 具有相似的促合成代谢作用外, 还具有参与渗透调控等特殊的生理功能。

2.1 促生长作用

研究证实, 将牛、猪和人的 GH 通过腹腔或肌肉注射、埋植或高渗浸泡等手段给入鱼体, 具有显著的生长促进作用。而且, 外源的鱼类 GH 同样具有促进鱼类生长的作用。近年来, 基因工程技术的发展使得重组 GH 的生产变为现实。现已证实, 基因工程重组脊椎动物 GH 与提纯的天然 GH 具有同样促进鱼类生长的生物活性; 且鱼类自身 GH 用于鱼类生长促进, 具有同源性强、效用剂量低有利于克服人们对外源哺乳类 GH 引入鱼体产生食用疑虑等优点。

外源 GH 给入鱼体, 还常常影响鱼类体重和体长的关系, 通常用肥满度($CF=100 \times$ 体重 / 体长³, g/cm^3)表示。Higgs 等(1976)将牛 GH(bGH) 分别给入银大麻哈鱼 56d 和 84d, 使 CF 降低, 停药后又逐渐恢复; 这与 Gill 等(1985)用重组鸡 GH 和重组牛 GH(rbGH) 处理太平洋鲑幼鱼, Down 等(1988)用 rbGH 处理银大麻哈鱼幼鱼和 Xu 等(1995)用重组鳗鲡 GH(reGH) 浸泡真鲷仔稚鱼等, 所得结果相似。从而说明, GH 促进鱼类生长首先表现为促进体长的生长, 即促进软骨和骨骼的生长, 与 Takagi 等(1992)用外源大麻哈鱼 GH 和 reGH 促进虹鳟咽骨生长的结论相吻合。

外源 GH 引入鱼体参与合成代谢等作用, 是否会引起鱼体内脏或肌肉局部蛋白质、脂肪或水分含量的变化, bGH 处理银大麻哈鱼停药 7d 后测得, 肌肉水分含量增加, 蛋白质和脂肪含量略降低; 而 Agellon 等(1988)用重组虹鳟 GH 处理虹鳟, 停药 4 周后测得, 其肌肉水分、蛋白质与脂肪含量无明显变化。因此, 外源 GH 虽可短期引起肌肉组成成分含量的变化, 但随着停药时间的延长, 这种变化会逐渐减小或恢复。

鱼类 GH 血清水平与生长存在着密切的相互关系。Sumpter(1992) 在研究两种品系

1) 徐 斌, 1996, 青岛海洋大学博士学位论文。

的虹鳟血清 GH 水平与生长关系时发现, 血清的 GH 水平在鱼的不同生长阶段波动较大, 幼鱼的特定生长率(SGR)虽高于成鱼, 但血清 GH 水平低于成鱼。血清 GH 水平与生长的关系也与鱼类自身的生理条件有关。虹鳟在饥饿状态或性腺成熟期间其血清 GH 水平虽高, 但生长缓慢(Sumpter et al., 1991a, b); 鲑繁殖期间生长停止, 但血清 GH 水平也很高(LeBail et al., 1991); 有生长发育障碍(stunt)的大西洋鲑, 其血清 GH 水平也很高(Bjornsson et al., 1988)。另外, 外源 GH 给入鱼体, 提高了血清 GH 水平, 能显著促进鱼类生长(McLean et al., 1994)。由此可见, 血清 GH 水平控制鱼体的生长, 在正常条件(摄食正常, 水温的环境条件合适)下, 血清 GH 水平高, 则生长速度快; 相反, 在一些特殊生理条件(营养不良, 繁殖期间等)下, 血清 GH 水平与生长呈负相关, 产生这一现象的原因可能与在此条件下, 生物体内 GH 受体的数量减少有关。

光照期和水温也直接影响鱼类血清 GH 水平与生长。Bjornsson 等(1989)证明, 增加光照可提高大西洋鲑血清 GH 水平, 而与季节无关; 且水温从 6℃ 提高到 11℃, 其血清 GH 水平明显提高, 同时促进了鱼类生长。与之相似, 银大麻哈鱼血清 GH 水平随春季自然光照期白天增长而提高(Prunet et al., 1989)。因此, GH 可能参与光-垂体轴的作用, 从而促进鲑生长及仔鲑(parr)向幼鲑(smolt)的转化。

2.2 渗透调节作用

鲑鳟鱼类多属广盐性鱼类, 生活史中经历从淡水到海洋的重要阶段。近年来, 激素对其盐度转变过程中的渗透调控作用研究日渐深入。已证实, 除皮质醇可直接通过鳃起渗透调控作用外(McCormick, 1990), GH 对许多鲑科鱼类的海水适应也有重要的调节作用。现已证明, 猪 GH 给入鱼体可增加鳟和大西洋鲑幼鱼在海水中的存活率。GH 能增强红大麻哈鱼和银大麻哈鱼在海水中的低渗调控能力; 并且这种作用与 GH 对鱼体的生长促进作用是相互独立的(Madsen, 1990 a, b), 而催乳素(PRL)无此作用。此外, Xu 等(1996)¹⁾证实, reGH 也能增强罗非鱼幼鱼在海水中的低渗调控能力。因此, 可将 GH 的这种作用作为一种简便快速鉴定鱼类 GH 生物活性的方法。

2.3 参与应激反应

与哺乳类相似, GH 还参与鱼类各种应激反应。Barrett 等(1989)证明, 虹鳟 GH 对水温变化能产生应激反应, 冬季低温时血清 GH 水平低, 夏季高温时 GH 水平高。在水流速高, 鱼类快速游泳应激时, GH 水平明显提高, 直到体力耗尽时, GH 产生完全受到抑制, 这可能是鱼类产生较多 GH 用以抑制暂时应激反应的一种自我保护。Sumpter 等(1991a)证实, 长期饥饿可使虹鳟血清 GH 水平显著提高, 但生长停止, 肥满度降低, 而不影响皮质醇的含量, 这种作用可能与饥饿状态下 GH 加强脂肪的动用有关。另外, 长期缺氧应激, 使虹鳟血清 GH 水平明显提高, 同时伴随着皮质醇含量增加, 这一反应说明 GH 可能参与下丘脑-垂体-肾间腺轴和促甲状腺活力的作用。

2.4 与其它激素的相互作用

胰岛素样生长因子(IGFs)或称生长调节素(somatomedins)是一种多肽生长因子,

1) Xu, B. et al., 1996, Submitted to 3rd International Symposium on Fish Endocrinology, Hokkaido, Japan. (in press)

主要由 IGF-I 和 IGF-II 等组成。IGF-II 只与胚胎的生长有关, 已证明, 银大麻哈鱼、大西洋鲑与哺乳类 IGF-I 之间有很高的同源性, 均为 70 个氨基酸(aa)组成的多肽。GH 具有明显促进鱼类 IGF-I mRNA 表达(Duan et al., 1993)和提高鱼类 IGF-I 血清水平的作用, 而 IGF-I 可直接促进鳗鲡和银大麻哈鱼软骨对硫酸盐的吸收(Duan et al., 1990a; McCormick et al., 1992), 从而促进鱼类骨骼的生长。另外, 重组人 IGF-I (rhIGF-I) 给入虹鳟, 6, 12, 24h 后对其自身 GH 的释放有抑制作用, 可见, 过多的 IGF-I 对垂体 GH 的分泌有负反馈作用(Perez-Sanchez et al., 1992)。

硬骨鱼类 GH 对其性腺类固醇激素生成的调控作用是通过垂体-性腺轴发挥的。通常, 鱼类性腺成熟的早期同时伴随着快速生长过程。Higgs 等(1976)证明外源 bGH 能促进银鲑卵巢的生长。Young 等(1983)从细胞学研究证实, 在卵黄生成阶段, 宽帆鳉 GH 细胞的分泌加强。最近研究证明, 重组大鳞大麻哈鱼 GH(rcsGH) 能明显增加去垂体的底鳃血清中睾酮(雄鱼)和 17β -雌二醇(E_2)的含量; 也显著刺激了离体培养的精巢分泌睾酮和 11-酮睾酮及卵巢分泌 17β -雌二醇的能力。此外, Le Gac 等(1992)证实; GH 能刺激虹鳟性腺类固醇激素的生成。显然进一步揭示鱼类 GH 与性腺类固醇间相互作用的机制对了解生长与繁殖的关系是非常重要的。

鱼类 GH 对甲状腺激素的作用研究始于 70 年代末, 已证实, GH 有促进鱼类甲状腺激素生成的作用及促进周边代谢中 T_4 转化为 T_3 。最近, MacLatchy 等(1990)证明, 与哺乳类相似, GH 也有加强鳗鲡和虹鳟 5'-单脱碘酶(5'-D)活力的作用, 从而促进 T_4 转化为 T_3 , 这一作用也可用于鱼类 GH 生物活性的鉴定。Byamungu 等(1990)还证实, 羊 GH 可促进罗非鱼周边代谢中 T_4 转化为 rT_3 , 这是硬骨鱼类中存在 rT_3 形式的唯一例证。

Young(1988)证明, 外源 GH 通过下丘脑-垂体-肾间腺轴可增强在体或离体的银大麻哈鱼肾间腺对促肾上腺皮质激素(ACTH)的分泌作用, 对皮质醇的分泌无促进作用。

2.5 其它作用

大麻哈鱼 GH 还有抑制冬比目鱼抗冻蛋白(AFP)的合成, 降低血清 AFP 水平的作用(Idler et al., 1989)。另外, 在多倍体鱼类性成熟时, 三倍体虹鳟雌鱼血清 GH 较低, 二倍体雌鱼血清 GH 却较高; 三倍体雄鱼不能发育成像正常二倍体鱼一样的精巢, 但其血清 GH 水平却较高, 而肥满度降低(Sumpter et al., 1992)。

主 要 参 考 文 献

- Agellon, L. B. et al., 1988, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**: 146—151.
- Barrett, B. A. et al., 1989, *Comp. Biochem. Physiol.*, **94A** (4): 791—794.
- Bjornsson, B. Th. et al., 1988, *Aquaculture*, **73**: 275—281.
- Bjornsson, B. Th. et al., 1989, *Aquaculture*, **82**: 77—91.
- Byamungu, N. et al., 1990, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **80**: 33—40.
- Down, N. E. et al., 1988, *Aquaculture*, **68**: 141—155.
- Duan, C. et al., 1990a, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **79**: 320—325.
- Duan, C. et al., 1993, *Fish. Physiol. Biochem.*, **11** (1—6): 371—379.
- Gill, J. A. et al., 1985, *Biotechnology*, **3**: 643—646.
- Gray, E. S. et al., 1991, *J. Endocrinol.*, **131**: 57—66.
- Higgs, D. A. et al., 1976, *J. Fish. Res. Board. Can.*, **33**: 1585—1603.
- Idler, D. R. et al., 1989, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **74**: 327—334.
- LeBail, P. Y. et al., 1991, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **83**: 75—85.
- Le Gac, F. et al., 1992, *Biol. Reprod.*, **46**: 949—957.
- Madsen, S. S., 1990a, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **79**: 1—11.
- Madsen, S. S., 1990b, *Fish Physiol. Biochem.*, **8**: 271—279.
- MacLachy, D. L. et al., 1990, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **78**: 164—172.
- McCormick, S. D., 1990, *Ame. J. Physiol.*, **259**: R857—R863.
- McCormick, S. P. et al., 1992, *J. Exp. Zool.*, **262**: 166—171.
- McLean, E. et al., 1994, *Aquaculture*, **122**: 359—368.
- Nagler, J. J. et al., 1991b, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **84**: 374—380.
- Perez-Sanchez, J. et al., 1992, *J. Exp. Zool.*, **262**: 287—290.
- Prunet, P. et al., 1989, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **74**: 355—364.
- Sumpter, J. P. et al., 1991a, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **83**: 94—102.
- Sumpter, J. P., 1991b, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **83**: 103—110.
- Sumpter, J. P., 1992, *Aquaculture*, **100**: 299—320.
- Takagi, Y. et al., 1992, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **86**: 90—95.
- Xu, B. et al., 1995, *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, **13** (1): 86—96.
- Young, G. et al., 1983, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **52**: 86—101.
- Young, G., 1988, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **71**: 85—92.

ADVANCES IN THE STUDIES ON THE ISOLATION, CHARACTRIZATION AND PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS OF FISH GROWTH HORMONE

Xu Bin, †Zhang Peijun, Li Deshang

*(Open Laboratory on Aquaculture Research of the State Educational Committee of China,
Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003)*

*†(Experimental Marine Biological Laboratory, Institute of Oceanology,
Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)*

Abstract The advances in the studies on isolation, characterization and physiological functions of fish growth hormone (GH) were reviewed based on 1988—1994 published data. About twenty-one fish growth hormones, including blue shark, tilapia etc., have been isolated. Fish growth hormones were mostly obtained by homogenizing the pituitary or using the media of cultured pituitary, then extracting under alkaline condition (pH=9—10), chromatographing on a Sephadex column and separating on a reversed phase HPLC column. Usually the bioactivity of fish growth hormone was determined by the feature of growth promotion to juvenile fish. The recent studies indicated that fish GH has the main physiological functions of growth promotion, hypo-osmoregulation, response of stress, modulating insulin-like growth factor-I (IGF-I) secretion, regulating the gonadal steroidogenesis through pituitary-sex gland axis, stimulating the peripheral conversion of thyroxine (T_4) to triiodothyronine (T_3) and inhibiting the synthesis of antifreeze protein in winter flounder.

Key words Fish Growth hormone Isolation Characterization Physiological function