

DOI: 10.11758/yykxjz.20140406

http://www.yykxjz.cn/

外源激素对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)血清 IGF-1 含量及肝脏 IGF-1 和 IGFBP-1 mRNA 表达的影响*

钱 焜 温海深 迟美丽 倪 蒙 张冬茜 丁玉霞

(中国海洋大学水产学院 青岛 266003)

摘要 对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)成鱼腹腔注射促黄体激素释放激素类似物(LHRH-A3)和人体绒毛膜促性腺激素(HCG),利用放射性免疫激素测定方法(RIA)检测了花鲈血清中类胰岛素生长因子(Insulin-like growth factor 1, IGF-1)在注射后 6、12、24、48 h 内的变化情况,同时还利用荧光实时定量 PCR 技术检测了花鲈肝脏中 IGF-1 和类胰岛素生长因子结合蛋白 1(Insulin-like growth factor-binding protein 1, IGFBP-1)mRNA 的相对表达量的变化情况。结果表明,注射 LHRH-A3 的花鲈血清中 IGF-1 的含量在 24 h 后出现了明显的降低($P < 0.05$),而花鲈肝脏中 IGF-1 mRNA 的相对表达量在注射 6 h 后较对照组明显升高($P < 0.05$),而肝脏中 IGFBP-1 mRNA 的相对表达量则呈现下降趋势。注射 HCG 的花鲈血清中 IGF-1 的含量在注射后 12 h 出现了明显降低($P < 0.05$),24 h 后血清中 IGF-1 含量持续降低。肝脏中 IGF-1 mRNA 的相对表达量在注射后的 24 h 内均保持稳定,而在处理后的 48 h 出现了显著上升($P < 0.05$)。肝脏中 IGFBP-1 mRNA 的相对表达量在注射后 12 h 检测到显著升高($P < 0.05$)。研究结果表明,LHRH-A3 和 HCG 均可以通过直接或间接的刺激作用来触发花鲈 IGF 系统的应答反应,但是其中具体机制尚不明了。

关键词 花鲈;类胰岛素生长因子 1;类胰岛素生长因子结合蛋白 1;促黄体激素释放激素;人体绒毛膜促性腺激素

中图分类号 S917 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2014)04-0039-06

硬骨鱼类的生长发育与其他脊椎动物一样,主要是受到下丘脑-垂体-肝脏(Hypothalamus-Pituitary-Liver, HPL)这个中心轴的调控,围绕着这个中心轴的内分泌调节因子主要有生长激素(Growth hormone, GH)和类胰岛素生长因子 IGF 家族(Insulin-like growth factor, IGF)(林浩然, 1996; Peter *et al*, 1995; 邵明瑜等, 2010)。生长激素生长调节作用的发挥主要还是通过与 IGF 家族成员的配合来完成的,这其中最主要的因子是 IGF-1。IGF-1 是在结构和功能上与胰岛素相关的一种多肽,除了能够产生胰岛素代谢作用外,还具有调节生长发育的功能。人类的 IGF-1 具有

多种生物学效应,包括激发细胞分裂和分化、抑制蛋白质降解和细胞凋亡,作为内分泌因子调节生长过程(Humbel *et al*, 1984; Lowe, 1991; Parrizas *et al*, 1997)。而类胰岛素生长因子结合蛋白 1 (IGFBP-1)作为 IGFs 的载体,通过与其结合来调控 IGFs 的释放,从而达到调节 IGFs、促生长作用的效果(McLellan *et al*, 1992)。研究表明,促性腺激素释放激素(Gonadotrophin-releasing hormone, GnRH)能够促进鲤科鱼类生长激素的分泌(Lin, 2000)。促黄体激素释放激素类似物(LHRH-A3)是哺乳动物 GnRH 的类似物,它不仅可以促进垂体生成和释放促性腺激素(GtH),还能刺激垂体中 GH

*国家“十二五”科技支撑计划重大项目课题(2011BAD13B03)资助。钱 焜, E-mail: qq320king@163.com

通讯作者: 温海深, 教授, E-mail: wenhaishen@ouc.edu.cn

收稿日期: 2013-04-19, 收修改稿日期: 2013-09-24

的释放,从而达到促生长的作用(Lin, 2000)。人体绒毛膜促性腺激素(Human Chorionic Gonadotrophin, HCG)具有促卵泡素(FSH)和促黄体素(LH)的生理作用,对于雌鱼能够促进卵泡成熟和诱导排卵,对于雄鱼能够促进雄激素的分泌(Malison *et al.*, 1998)。LHRH-A3 和 HCG 这两种激素主要用于实际生产中促进鱼体性腺分化和发育,但关于它们对鱼体生长的影响的相关报道较少。

本研究通过腹腔注射的方式给花鲈(*Lateolabrax japonicus*)注射 LHRH-A3 和 HCG 两种激素,观察了在注射之后的 48 h 内血清中 IGF-1 含量以及肝脏中 IGF-1 mRNA 和 IGFBP-1 mRNA 的表达情况。通过检测鱼类生长调控中枢的几个关键因子(血清中 IGF、肝脏中 IGF-1 和 IGFBP-1 mRNA)的含量变化情况,初步探索了 HCG 和 LHRH-A3 这两个在生产中广泛应用的催产剂对鱼体生长情况的影响,以期在实际生产提供一定的指导作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2011 年 11 月采自山东省青岛市网箱养殖花鲈成鱼(海水温度 8–10℃,投喂商业饲料,每天 3 次),数量为 60 尾,体质量为 553.5–811.3 g,体长为 34.5–42.8 cm。

1.2 主要试剂与仪器

主要试剂:LHRH-A3、HCG(宁波第二激素厂),鱼用生理盐水(PS)为实验室自制,Trizol Reagent、氯仿、乙醇、异丙醇、PrimeScript® RT Reagent Kit with gDNA eraser (Perfect Real Time)、SYBR®Premix Ex Taq™ (TliRNaseH Plus)、盐酸、Tris Base、类胰岛素生长因子-1 检测试剂(天津九鼎生物)。

主要仪器:Biometra PCR 仪, Biodropsis BD-1000 核酸测定仪, SageCreation 电泳凝胶成像系统, Roche Light Cycler 480, γ 免疫计数仪(SN695B6 型)。

1.3 激素注射实验及样品的采集

实验鱼暂养于实验室玻璃水箱中,每个水箱体积约 200 L,每个水箱养殖 4–5 尾花鲈,共 16 个水箱。气泵充氧(溶解氧 > 5 mg/L),人工调节光照(250 lx, 12 L:12 D),水温 8–10℃。暂养期间每天进行换水清池,每天换水量约为 120 L。暂养 3 d 后,开始进行激素注射。实验分为对照组(注射生理盐水)、LHRH-A3 处理组和 HCG 处理组,每组 20 尾,激素处理组每尾鱼腹腔注射 LHRH-A3(3 μ g/kg 鱼体重)或

HCG(1000 U/kg 鱼体重),而对照组注射同等体积的生理盐水。

激素注射开始前,采 3 尾普通实验鱼作为零点,注射完成后设置 4 个采样点,分别为 6、12、24、48 h。每次每组采集 3 尾鱼,尾静脉采血,并在无菌条件下获得花鲈的肝脏及其他组织用于后期的 mRNA 含量检测。

1.4 血清中 IGF-1 激素的测定

得到的血液样品在 4℃ 冰箱静置 6 h 后,12000 r/min 离心 20 min,用移液器小心吸取上清液,得到花鲈血清样品。根据样品数量,提前配制酸醇混合液($V_{\text{盐酸}}:V_{\text{无水乙醇}}=12.5:87.5$),利用 NaOH 调节 pH。配制 Tris Base(0.855 mol/L, pH=11.0)。

去结合蛋白:在离心管中取血清样品 80 μ l,酸醇液 720 μ l 混匀,室温放置 30 min,再以 4℃ 12000 r/min 离心 20 min,取上清液 400 μ l,加入 200 μ l Tris Base,混匀,室温放置 30 min,再以 4℃ 12000 r/min 离心 20 min,取上清液 100 μ l,待测。

利用放射性免疫激素测定方法(RIA)测定花鲈血清中 IGF-1 的含量。校准品为冻干品,浓度为 10、25、50、100、250、500 ng/ml,另外通过稀释增加一个 1 ng/ml 的标准点。标本和所测的样品存放于 2–8℃,并于 24 h 内测定。

1.5 肝脏中 IGF-1、IGFBP-1 mRNA 荧光实时定量 PCR 检测

提取对照组和两个激素处理组的肝脏组织的 mRNA(浓度为 500 ng/ μ l)为模板,按照 PrimeScript® RT Reagent Kit with gDNA eraser (Perfect Real Time)的说明书进行反转录,得到 cDNA 模板。

在 Roche Light Cycler 480 实时定量 PCR 仪上进行荧光实时定量 PCR 反应。按照 SYBR®Premix Ex Taq™(TliRNaseH Plus)试剂盒配制反应液,采用三步法,反应程序为:94℃,30 s;94℃ 5 s, T_M ℃ 20 s;72℃,40 s。18s、IGF-1 和 IGFBP-1 的表达引物见表 1

表 1 IGF-1 和 IGFBP-1 引物序列及其结合位置
Tab.1 Primers for IGF-1 and IGFBP-1 mRNA and the positions of primers integrate

引物 Primer	序列 Sequence(5'-3')	位置 Position(bp)
IGF-1 EF	CGCAATGGAACAAAGTCGGAATAT	64–87
IGF-1 ER	GTGAGAGGGTGTGGCTACAGGAGA	256–279
IGFBP-1 ER	CAGGGCAGTCGTTGAGTT	187–204
18sF	GGGTCCGAAGCGTTTACT	—
18sR	TCACCTCTAGCGGCACAA	—

(其中 18s 和 IGF-1 引物的 T_M 值为 58°C , IGFBP-1 的 T_M 值为 59°C), 并且提前已经对这 3 对引物进行优化, 符合实时定量反应的要求, 扩增效率均在 95%–105% 之间。每个样品设 3 个重复, 得到 C_T 值后, 根据 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法进行计算。

1.6 统计分析

数据的统计分析运用 SPSS 13.0 ANOVA 中的 Duncan's 多重检验, 数据均表示为平均数±标准误, 图中标有不同字母时表示存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 血清中 IGF-1 的测定

图 1 显示了在各个处理组中花鲈血清中 IGF-1 的变化规律。花鲈血清中 IGF-1 的含量随着时间的延长均呈现下降的趋势。HCG 组和 LHRH-A3 组在处理 12 h 后, 花鲈血清中 IGF-1 含量较对照组有显著降低 ($P < 0.05$)。处理 24 h 和 48 h 后, HCG 组 IGF-1 含量较对照组仍降低 ($P < 0.05$), 而 LHRH-A3 组中的 IGF-1 含量则一直保持在与对照组相近的水平。

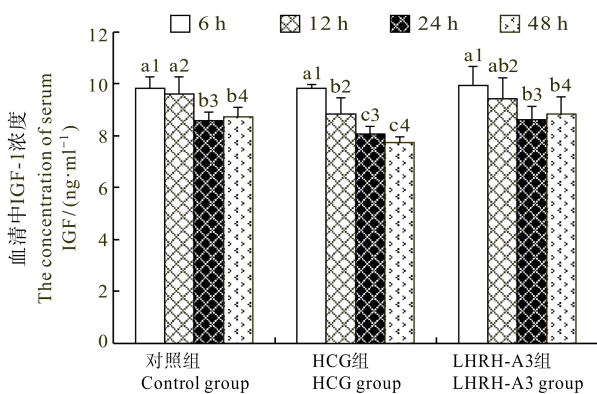


图 1 花鲈各处理组间血清 IGF-1 含量的变化情况

Fig.1 The variations of IGF-1 in serum of *L. japonicus* treated with hormones

不同的数字代表不同的处理时间, 不同的字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

Dissimilar numbers indicate different testing points, different letters indicate significant differences at $P < 0.05$

从各个处理组内部花鲈血清中 IGF-1 含量的变化可以看到, 对照组实验鱼血清中 IGF-1 的含量在注射 24 h 后出现明显的下降 ($P < 0.05$); HCG 组实验鱼血清中 IGF-1 的含量在注射 12 h 后即出现了明显的降低 ($P < 0.05$), 24 h 后血清中 IGF-1 含量持续降低, 之后一直保持在较低的水平。LHRH-A3 处理组在激

素注射后的 12 h 内, 血清中 IGF-1 的含量并无太大变化, 24 h 后出现了明显的降低 ($P < 0.05$), 且保持在较低水平。

2.2 花鲈肝脏中 IGF-1 mRNA 的荧光实时定量 PCR 检测

运用荧光实时定量 PCR 方法检测花鲈肝脏中 IGF-1 mRNA 相对表达量的变化规律, 从图 2 可以看到, HCG 处理组实验鱼肝脏中 IGF-1 mRNA 的相对表达量在注射后的 24 h 内均保持稳定, 较对照组无明显差异, 而在处理后的 48 h 出现了显著的上升 ($P < 0.05$)。在注射后 6 h, LHRH-A3 处理组中, 实验鱼肝脏中 IGF-1 mRNA 的相对表达量较对照组明显升高 ($P < 0.05$), 12 h 后降低到与对照组相当的水平, 之后的实验过程中一直保持稳定。

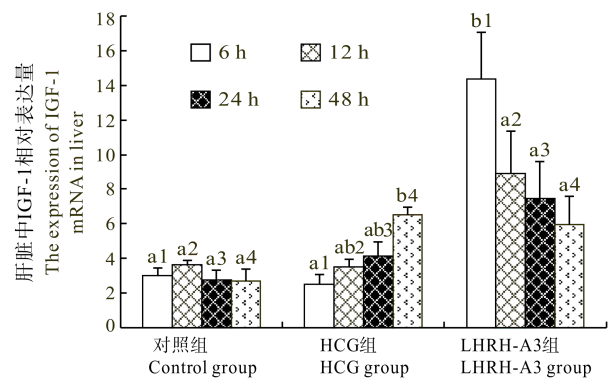


图 2 花鲈各处理组间肝脏 IGF-1 mRNA 的表达量变化
Fig.2 The variations of IGF-1 mRNA expression in liver of *L. japonicus* treated with hormones

不同的数字代表不同的处理时间, 不同的字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

Dissimilar numbers indicate different testing points, different letters indicate significant differences at $P < 0.05$

从各个处理组内部花鲈肝脏中 IGF-1 mRNA 含量的变化可以看到, HCG 组实验鱼 IGF-1 mRNA 的含量在注射后一直呈上升的趋势, 而且在 48 h 后出现了显著的升高 ($P < 0.05$)。而 LHRH-A3 处理组在激素注射后却一直呈现下降趋势, 并且在 12、24 和 48 h 与 6 h 时相比差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3 IGFBP-1 mRNA 含量的荧光实时定量 PCR 检测

由图 3 看到, 在不同的处理组之间, HCG 组的实验鱼在注射后 12、24、48 h, 其肝脏中 IGFBP-1 mRNA 的相对表达量与对照组相比显著升高 ($P < 0.05$), 而 LHRH-A3 处理组中, 花鲈肝脏 IGFBP-1 mRNA 较对照组而言差异不显著。

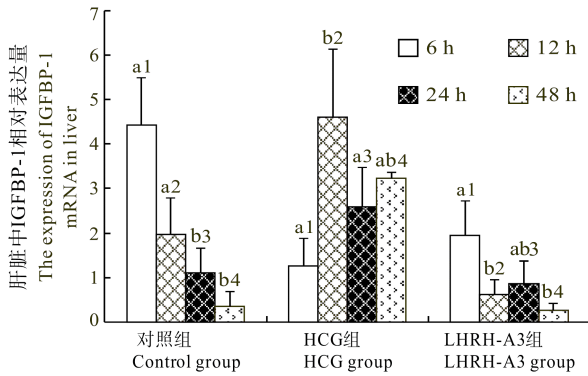


图 3 各组中花鲈肝脏 IGFBP-1 mRNA 的表达量变化
Fig.3 The variations of IGFBP-1 mRNA expression in liver of *L. japonicus* treated with hormones

不同的数字代表不同的处理时间, 不同的字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

Dissimilar numbers indicate different testing points, different letters indicate significant differences at $P < 0.05$

各个处理组内部花鲈肝脏中 IGFBP-1 mRNA 含量的变化规律: 对照组实验鱼肝脏中 IGFBP-1 mRNA 的含量在注射后 24、48 h 出现显著降低 ($P < 0.05$); HCG 组实验鱼 IGF-1 mRNA 的含量在注射 12 h 后显著升高 ($P < 0.05$), 而后稍有下降。而 LHRH-A3 处理组在激素注射后却呈现下降趋势, 并且在 12、48 h 时检测到显著性差异 ($P < 0.05$)。

3 讨论

促黄体激素释放激素类似物(LHRH-A3)是哺乳动物 GnRH 的类似物, 它不仅可以促进垂体生成和释放促性腺激素(GtH), 还能刺激垂体中 GH 的释放, 从而达到促生长的作用(Lin, 2000)。通过体腔注射 LHRH-A3, 发现花鲈成鱼肝脏中 IGF-1 mRNA 的相对表达量显著升高。有研究报道, GnRH 和它的类似物不仅具有促进 GH 释放的作用, 同时还能加强垂体中 GH mRNA 水平的升高(Lin *et al.*, 1993), 这种促进作用在其他鱼类, 如金鱼(*Carassius auratus*)(Marchant *et al.*, 1989)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)(林信伟等, 1993)、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)(王黎等, 1997)、尼罗罗非鱼(*Tilapia nilotica*)(马细兰等, 2013)中也有报道。而在海水鱼黑鲷(*Sparus macrocephalus*)的研究中发现, LHRH-A3 同样可以刺激性成熟时期血清中 GH 的升高(邓利等, 2003)。此外, 在配合饲料中加入 LHRH-A3 也能促进黄鳍鲷(*Sparus latus*)GH 的生成以及 IGF-1 mRNA 的表达(石和荣等, 2005), 这种投喂方式同样也可以促进鲫鱼的生长(林信伟等, 1993)。本研究发现, 花鲈肝脏中 IGF-1 mRNA 表达水平在

LHRH-A3 的刺激下有所提高, 而 LHRH-A3 处理的花鲈成鱼血清中 IGF-1 的含量并无明显变化。可能是由于处理时间太短, 具体实验效果还需延长时间来进行验证。而肝脏中 IGFBP-1 mRNA 的表达量在 LHRH-A3 处理后有所降低, 但是较对照组无明显的差异(图 3)。马细兰等(2013)在 LHRH-A3 对罗非鱼生长轴相关基因影响的研究中发现, LHRH-A3 能够促进罗非鱼垂体 GH mRNA、肝脏 GHR mRNA 以及肝脏中 IGF-1 mRNA 的表达量增加。但是, 也有研究表明, LHRH-A3 并不能促进非洲鲇(*Clarias gariepinus*)(Bosma *et al.*, 1995)和革胡子鲶(*Ctarias leather*)(温海深等, 2002)脑垂体 GH 的释放。本研究显示了 LHRH-A3 对花鲈肝脏 IGF-1 mRNA 表达量的提升作用, 但是没有研究脑中 GH mRNA 表达量的变化规律, 但可以推测, 可能是由于 LHRH-A3 促进垂体分泌 GH, 从而间接影响了肝脏中 IGF-1 的表达量。

经过 HCG 处理的花鲈成鱼肝脏 IGF-1 mRNA 相对表达量有所增加, 但是较对照组的变化并不明显(图 4), 可能需要再加设几个采样点才能看到肝脏中 IGF-1 相对表达量的显著变化。有研究显示, 在人体的卵巢癌细胞中 HCG 处理能够显著增加 IGF-1 mRNA 的表达量, HCG 可能是通过上调 IGF 的表达来调控细胞凋亡抑制信号, 从而影响了卵巢癌细胞的化学敏感性(Kuroda *et al.*, 1998)。这暗示着在鱼类中 HCG 可能也具有这种调节机制, 需要进一步研究 HCG 对于性腺中 IGF-1 mRNA 的表达影响, 才能得到较为全面的信息。IGFBP-1 mRNA 的相对表达量在处理 6 h 出现明显的升高之后有所下降, 相对表达量还是要显著高于对照组, 可以推测 HCG 对于花鲈生长的影响可能是通过增加 IGFBP-1 mRNA 的转录水平来完成的。这点不同于 LHRH-A3 处理组, 暗示着这两种催产激素对于花鲈生长的影响机制是有差异的。此外, HCG 处理后, 血清中 IGF-1 的含量持续下降, 且与对照组有较明显的差异。在金鱼中, HCG 被推测可能具有调节 IGF 表达的作用(Srivastava *et al.*, 1994), 对于花鲈 IGFs 的基因来说, HCG 同样具有这种作用, 但是具体作用机制并不明了。有报道称, 注射 HCG 能够促进南方鲇(*Silurus meridionalis*)血清中 GtH 的水平(邓思平等, 2003), 而 LHRH-A3 具有 GnRH 类似物的特性, 不仅可以促进垂体 GtH 的产生, 也可以促进垂体 GH 的产生, 推测 HCG 对花鲈 IGF-1 mRNA 的促进作用可能是间接的, 具体作用机制还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 马细兰, 张勇, 周立斌, 等. LHRH-A 对尼罗罗非鱼生长及生长轴相关基因表达的影响. 水生生物学报, 2013, 37(1): 42-47
- 王黎, 林浩然. 促黄体素释放激素类似物和多巴胺对鲤鱼幼鱼和性成熟雌鱼生长激素分泌的作用. 动物学报, 1997, 43(3): 303-308
- 邓利, 林浩然. 腹腔注射 LHRH-A 对黑鲷生长激素及其受体的影响. 深圳大学学报(理工版), 2003, 20(2): 60-65
- 邓思平, 王德寿, 张耀光, 等. 外源激素对南方鲈血清促性腺激素水平的影响. 西南师范大学学报(自然科学版), 2003, 28(4): 614-617
- 石和荣, 张勇, 张为民, 等. 半胱胺盐酸盐和 LHRH-A 对黄鳍鲷 IGF-基因表达和生长的影响. 动物学报, 2005, 51(1): 108-116
- 林信伟, 林浩然, 张庆. 促性腺激素释放激素类似物促进鱼类生长激素分泌和生长. 水产学报, 1993, 17(4): 282-288
- 林浩然. 鱼类生长和生长激素分泌活动的调节. 动物学报, 1996, 42(1): 69-79
- 温海深, 林浩然, 肖东, 等. 野生鲈鱼生长激素分泌的季节变化及其神经内分泌调控. 动物学报, 2002, 48(2): 213-220
- Bosma PT, Van Dijk W, Van Haren S, *et al.* GnRH receptors are restricted to gonadotropes in male African catfish. In: Goetz FW, Thomas P (Eds.), Proceedings of the 5th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. 1995, Austin, Texas, USA, 55-57
- Humbel RE. Insulin-like growth factors, somatomedins, and multiplication stimulating activity: chemistry. Hormonal Proteins and Peptides. 1984, New York: CH Academic, 57-79
- Kuroda H, Mandai M, Konishi I. Human chorionic gonadotropin (hCG) inhibits cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells: Possible role of up-regulation of insulin-like growth factor-1 by hCG. *Int J Cancer*, 1998, 76(4): 571-578
- Lin HR. The interaction of neuroendocrine regulation on reproduction and growth in fish. *Zool Res*, 2000, 21(1): 12-16
- Lin XW, Lin HR, Peter RE. Growth hormone and gonadotropin secretion in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): In vitro interactions of gonadotropin-releasing hormone, somatostatin, and the dopamine agonist apomorphine. *Gen Comp Endocr*, 1993, 89(1): 62-71
- Lowe WL Jr. Biological action of the insulin-like growth factors. In: LeRoith D, Editor. *Insulin-like growth factors: molecular and cellular aspects*. 1991, Boca Raton, FL: CRC Press, 49-85
- Malison JA, Procarione LS, Kayes TB, *et al.* Induction of out-of-season spawning in Walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquaculture*, 1998, 163(1-2): 151-161
- Marchant TA, Chang JP, Nahorniak CS, *et al.* Evidence that gonadotropin-releasing hormone also functions as a growth hormone-releasing factor in the goldfish. *Endocrinol*, 1989, 124(5): 2509-2518
- McLellan KC, Hooper SB, Bocking AD. Prolonged hypoxia induced by the reduction of maternal uterine blood flow alters insulin-like growth factor-binding protein-1(IGFBP-1) and IGFBP-2 gene expression in the ovine fetus. *Endocrinol*, 1992, 131(4): 1619-1628
- Parrizas M, LeRoith D. Insulin-like growth factor-I inhibition of apoptosis is associated with increased expression of the bcl-xl gene product. *Endocrinol*, 1997, 138(3): 1355-1358
- Peter RE, Marchant TA. The endocrinology of growth in carp and related species. *Aquaculture*, 1995, 129(1-4): 299-321
- Srivastava KR, van der Kraak G. Regulation of DNA synthesis in goldfish vitellogenic ovarian follicles by hormones and growth factors. *J Exp Zool Part A*, 1994, 270(3): 263-272

(编辑 冯小花)

Effects of Exogenous Hormone Injection on the Serum IGF-1 and the Expression of IGF-1 mRNA and IGFBP-1 mRNA in the Liver of Japanese Sea Bass (*Lateolabrax japonicus*)

QIAN Kun, WEN Haishen , CHI Meili, NI Meng, ZHANG Dongqian, DING Yuxia
(College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao 266003)

Abstract Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) is a highly profitable fish in aquaculture industry. They are widely cultivated in the southern and northern coastal provinces in China. The mechanisms underlying the effects of steroids hormones on the growth of this fish are still unclear. In this study, we investigated the effects of luteinizing hormone releasing hormone-A3 (LHRH-A3) and human chorionic gonadotropin (HCG) on the insulin-like growth factor (IGF) family genes of Japanese sea bass. We measured the level of serum IGF-1 using Radiate Immuno Assay (RIA) at 6 h, 12 h, 24 h and 48 h after the intraperitoneal injection of the hormones. In the meanwhile, we also applied fluorescent real-time quantitative RT-PCR to examine the levels of IGF-1 mRNA and insulin-like growth factor-binding protein 1 (IGFBP-1) mRNA in the liver. We divided the subjects into three groups — the PS (Physiological Saline) group, the LHRH-A3 (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$) group, and the HCG (1000 U/kg) group. In the LHRH-A3 group, the serum IGF-1 level decreased significantly at 24 h after the injection of LHRH-A3 ($P < 0.05$), and the level of IGF-1 mRNA in the liver was higher than the PS group at 6 h ($P < 0.05$); the level of IGFBP-1 mRNA showed a constant decreasing pattern in 6 h after the injection. In the HCG group, the serum IGF-1 level decreased significantly at 12 h after the injection ($P < 0.05$); the level of IGF-1 mRNA dropped at 48 h after injection ($P < 0.05$); the level of IGFBP-1 mRNA increased significantly at 12 h. In conclusion, our results showed that the injection of LHRH-A3 and HCG caused dramatic increase in the mRNA level in the liver and IGF-1 level in the serum. It is most likely that LHRH-A3 and HCG can trigger the response of IGFs system in Japanese sea bass directly or indirectly. Future study will be needed to reveal the underlying mechanisms.

Key words Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*); IGF-1; IGFBP-1; LHRH-A3; HCG