



# IGF1-PI3K-Akt 信号通路相关基因在黄羽肉鸡肌肉和肝脏中的表达

束婧婷<sup>1</sup>, 姬改革<sup>1</sup>, 单艳菊<sup>1</sup>, 章明<sup>1</sup>, 巨晓军<sup>1</sup>, 刘一帆<sup>1</sup>, 屠云洁<sup>1</sup>, 盛中伟<sup>1</sup>, 唐燕飞<sup>2</sup>, 蒋华莲<sup>2</sup>, 邹剑敏<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>江苏省家禽科学研究所/江苏省家禽遗传育种重点实验室, 江苏扬州 225125; <sup>2</sup>广西富凤农牧集团有限公司, 南宁 530024

**摘要:**【目的】IGF1-PI3K-Akt 信号通路是调控生长发育的关键通路, 选择慢速型的广西麻鸡和中速型的花山麻鸡作为研究对象, 探究 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因胰岛素样生长因子 1 (Insulin-like growth factors, IGF1)、胰岛素样生长因子 1 受体 (Insulin-like growth factor receptor, IGF1R) 和胰岛素受体底物 1 (Insulin receptor substrate1, IRS1) 在骨骼肌和肝脏中的发育性表达规律, 为阐明黄羽肉鸡生长发育调控机理提供参考。【方法】采用 SPSS20.0 比较广西麻鸡和花山麻鸡在胚胎期至出生后早期的生长发育差异, 采用实时荧光定量 PCR 方法检测上述 3 个基因在两个品种鸡胚胎期 (9、12、16 胚龄) 和出生后 (0、7、21、35、49 和 63 日龄) 胸肌、腿肌和肝脏中的表达差异, 并将其与体重和组织重进行相关性分析。【结果】鸡生长发育早期体重、骨骼肌重和肝脏重变化呈现显著的品种和时间特异性, 经过选育的花山麻鸡体重和组织重的增长在胚胎发育后期已经远远超过广西麻鸡。IGF1、IGF1R 和 IRS1 基因表达存在显著的品种、组织和发育时段特异性, 总体上, 在胚胎期肌肉中的表达量高于肝脏组织, 出生后则为肝脏中的表达量高于肌肉组织, 广西麻鸡肌肉中的表达量高于花山麻鸡, 而花山麻鸡肝脏中的表达量要高于广西麻鸡。IGF1 基因在两个品种胸腿肌中均在 9 胚龄即可检测到表达, 腿肌中表达量均是 9 胚龄时最高, 除与 12 胚龄差异不显著外, 与其他各阶段差异显著, 表达量最低点出现在出雏 0 日龄时; 胸肌中则是 12 胚龄时表达量最高, 63 日龄时最低; 肝脏中则出现品种差异, 广西麻鸡胚胎期未检测到表达, 从出雏 0 日龄开始表达, 表达高峰出现在 21 日龄时, 而在花山麻鸡中虽然胚胎期检测到表达但表达量极低, 49 日龄时达到表达高峰。两品种鸡肌肉和肝脏各个阶段均检测到 IGF1R mRNA 的表达, 在胸肌和腿肌中的表达量均表现为 9 胚龄最高, 广西麻鸡 9 胚龄与其他各阶段差异显著, 花山麻鸡 9 胚龄除与 12 胚龄差异不显著外, 与其他各阶段均差异显著; 肝脏中, 广西麻鸡表达高峰出现在 21 日龄, 且与 9、12、16 胚龄和 0 日龄差异显著, 花山麻鸡则是 63 日龄时最高, 与其他各阶段差异显著。两品种鸡肌肉和肝脏各个阶段均能检测到 IRS1 mRNA 的表达, 在两品种肌肉中的表达量均表现为 9 胚龄或者 12 胚龄最高, 与其他各阶段差异显著, 随后下降, 并在出雏后维持在较低水平; 肝脏中 IRS1 的表达模式与 IGF1R 一致。IGF1、IGF1R 和 IRS1 基因的表达两两之间均表现出显著或极显著的正相关关系, 同时, 肌肉中 3 个基因的表达与体重、胸(腿)肌重存在显著的负相关, 而肝脏中 3 个基因的表达与体重、胸(腿)肌重、肝脏重均存在显著的正相关。【结论】IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因之间存在一致性趋势, 品种间和组织间表达量的差异可能正是不同类型黄羽肉鸡生长发育差异的主要原因之一。

**关键词:** 黄羽肉鸡; 基因表达; IGF1-PI3K-Akt 信号通路; 肌肉; 肝脏

收稿日期: 2020-07-28; 接受日期: 2020-10-16

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目 (CX (20) 3003)、现代农业产业技术体系专项资金 (CARS-41)、江苏现代农业 (肉鸡) 产业技术体系集成创新中心 (JATS[2019]379)、江苏省农业重大新品种创制项目 (PZCZ201728)、江苏省家禽遗传育种重点实验室自主研究课题 (JQLAB-ZZ-202001)

联系方式: 束婧婷, E-mail: shujingting@163.com. 通信作者邹剑敏, E-mail: jqszjm@163.com

# Expression Analysis of IGF1-PI3K-Akt-Dependent Pathway Genes in Skeletal Muscle and Liver Tissue of Yellow Feather Broilers

SHU JingTing<sup>1</sup>, JI GaiGe<sup>1</sup>, SHAN YanJu<sup>1</sup>, ZHANG Ming<sup>1</sup>, JU XiaoJun<sup>1</sup>, LIU YiFan<sup>1</sup>, TU YunJie<sup>1</sup>, SHENG ZhongWei<sup>1</sup>, TANG YanFei<sup>2</sup>, JIANG HuaLian<sup>2</sup>, ZOU JianMin<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>Jiangsu Institute of Poultry Science/Key laboratory for Poultry Genetics and Breeding of Jiangsu Province, Yangzhou 225125, Jiangsu; <sup>2</sup>Guangxi Fufeng Farm Group Co., Ltd., Nanning 530024

**Abstract:** **【Objective】** IGF1-PI3K-Akt signal pathway have been implicated in the regulation of growth and development of chicken. In the present study, the expression of IGF, IGF1R and IRS1 genes of IGF1-PI3K-Akt signal pathway was first studied in skeletal muscle and liver tissues of Guangxi partridge chickens with slow growth rate and Huashan partridge chickens with moderate growth rate, which would provide a reference for clarifying the regulation mechanism of growth and development of yellow feather broilers. **【Method】** SPSS20.0 software was used to compare the differences of growth traits between Guangxi partridge chickens and Huashan partridge chickens. Expression of IGF1, IGF1R and IRS1 was quantified by RT-PCR in the breast muscle (BM), leg muscle (LM) and liver on days 9, 12, and 16 of embryonic development, as well as at 0, 7, 21, 35, 49, and 63 days post-hatching (PH) in the two chicken breeds, and the correlations between the gene expression level and body weight as well as tissue weight were also analyzed by SPSS20.0 software. **【Result】** The body weight, skeletal muscle and liver weight of chicken in the early growth development showed significant breed- and age-specificity. The growth of Huashan partridge chickens had far exceeded that of Guangxi partridge chickens from the late embryonic development. The expression patterns of IGF1, IGF1R and IRS1 showed significant differences in breed-, tissue- and age-specific fashion. Overall, the expression levels of the three genes in skeletal muscles of embryonic development were much higher than those in liver; in contrast, the expression levels in liver were higher than those in skeletal muscle at post-hatching development. As for breed, expression levels of the studied genes in skeletal muscle of Guangxi partridge chickens were higher than those in Huashan partridge chickens; in contrast, liver expression levels were higher in Huashan partridge chickens. IGF1 mRNA could be detected as early as on E9 d in the skeletal muscles of both chicken breeds, and the highest level was appeared at this stage in LM, significantly higher than those on the other studied development stages except on E12 d, and the lowest level was appeared on 0 d at hatching; while in BM, the highest level was appeared on E12 d and lowest level was appeared on 63 d; however, the level of IGF1 mRNA differed between breeds in liver. For Guangxi partridge chickens, the highest level was observed on 21 d and there was no expression during embryonic development, whereas the highest level was found on 49 d and very low level during embryonic development in Huashan partridge chickens. IGF1R mRNA could be detected at the whole studied stages in skeletal muscles and liver of both chicken breeds, and the highest level was appeared on E9 d in both BM and LM, significantly higher than those on the other studied development stages in Guangxi partridge chickens, and significantly higher than those on the other studied development stages except on E12 d in Huashan partridge chickens. In liver, the highest expression level of IGF1R was detected on 21 d in Guangxi partridge chickens, significantly higher than those on E9 d, E12 d, E16 d and 0 d; while the highest level was found on 63 d and significantly higher than those on the other studied development stages. IRS1 mRNA could also be detected at the whole studied stages in skeletal muscles and liver of both chicken breeds. In skeletal muscles, expression of IRS1 were higher on E9 d or E12 d than any other age, and then decreased with age and kept relative low level during PH development in both breeds. The liver IRS1 expression pattern was consistent with IGF1R in both breeds. Significant positive relationships were observed for the expression of studied genes in BM, LM and liver tissues of both chicken breeds. Meanwhile, the skeletal muscle expression of these three genes were all showed significant negative relationships with body weight and breast (leg) muscle weight, whereas the liver expression of these three genes were all showed significant positive relationships with body weight, breast (leg) muscle weight and liver weight. **【Conclusion】** These results implied that the expression of selected genes that comprise the IGF1-PI3K-Akt pathway existed identical trends, and differential expression between breeds and tissues might be one of the main reasons for the different growth rate of the different types of yellow feather broiler.

**Key words:** yellow feather broiler; gene expression; IGF1-PI3K-Akt pathway; skeletal muscle; liver

## 0 引言

【研究意义】禽类的生长发育是一个复杂的生理过程,不同生长阶段体重以及肌肉的生长速度与强度在不同品种以及不同生长环境之间有着较大差异,不同遗传背景对禽类的生长以及肌肉的产量有着重要影响<sup>[1-2]</sup>。研究表明,骨骼肌的“肥大”/“萎缩”,是由蛋白质合成/降解之间的平衡来控制的。IGF1-PI3K-Akt 信号通路既参与蛋白质的合成又参与蛋白质的降解,对骨骼肌的发育、细胞增殖和转化等具有极其重要的作用<sup>[3-4]</sup>,是调控生长发育的关键通路,肌肉的生长发育与 IGF1-PI3K-Akt 通路相关基因的时空特异性表达密切相关<sup>[5-7]</sup>。探究 IGF1-PI3K-Akt 信号通路相关基因在不同黄羽肉鸡品种(系)肝脏和骨骼肌中的表达差异对于阐明黄羽肉鸡肌肉生长发育分子机理具有重要意义,将有助于了解鸡生长过程中激素调控的本质。【前人研究进展】IGFs 系统由 3 个配体(IGF1, IGF2 和胰岛素),3 个受体(IGF1R, IGF2R 和胰岛素受体 IR)和 6 种结合蛋白(IGFBPs 1-6)组成<sup>[8]</sup>。IGF1 是动物体内最重要的生长因子之一,IGF1 可以通过 IGF1-PI3K-Akt 信号通路促进骨骼肌干细胞的增殖、肌细胞的分化以及成肌细胞融合为肌管<sup>[3,9]</sup>,对动物胚胎以及出生后的生长发育有重要作用。肝脏是产生 IGF1 的主要场所,但许多组织细胞均可产生 IGF1 和 IGF2,从而发挥自分泌和旁分泌作用。IGF1 促进细胞生长的长期效应主要是通过 IGF1R 介导的<sup>[10-11]</sup>。IGF1R 是一个 2 型酪氨酸激酶跨膜糖蛋白受体,通常以包含 2 个细胞外  $\alpha$  亚基和 2 个跨膜  $\beta$  亚基的异源二聚体的形式存在<sup>[12]</sup>。肌肉中 IGF1R 活性的丧失将导致肌纤维数目的减少和直径变小,从而影响骨骼肌的生长发育<sup>[13]</sup>。胰岛素受体底物(insulin receptor substrate, IRS)是一种信号传导蛋白,广泛分布于胰岛素敏感组织中。IRS1 是 IRS 家族最早发现的成员,是胰岛素信号通路的重要中间体,调节肌细胞的葡萄糖转运,促进肌细胞的生长、增殖和分化。IRS1 是 IGF1 的主要底物,处于 IGF1R 的下游,IGF1 配体通过结合  $\alpha$  亚基从而激活  $\beta$  亚基的内源酪氨酸激酶活性,进而结合并激活 IRS 和 Shc,磷酸化的 IRS1 通过结合 PI3K 的 p85 调节亚基进一步激活 PI3K-AKT-mTOR 信号通路。在小鼠中,敲除 IRS1 下调 IGF1 的表达<sup>[14]</sup>和导致体重减轻 40%—70%<sup>[15]</sup>。在鸡上,在成肌细胞中过表达和敲低 IRS1,发现 IRS1 可以促进细胞增殖<sup>[16]</sup>。由此可见,IRS1 是 IGF1-PI3K-AKT 通路的关键节点,

在 IGF1 信号通路的作用十分重要,可直接影响 IGF1 的表达进而调控肌肉的生长。【本研究切入点】IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因 IGF1、IGF1R 和 IRS1 对肌肉的生长发育具有重要的调控作用,目前关于这些基因在不同生长速度的黄羽肉鸡(广西麻鸡和花山麻鸡)不同部位肌肉和肝脏中表达情况还没有文献详细报道。【拟解决的关键问题】黄羽肉鸡按生长速度分为慢速型、中速型和快速型。广西麻鸡是我国重要的慢速型地方品种,其肉质鲜美,深受广大消费者欢迎,但其生长速度较慢(120 日龄上市,平均上市体重 1.5 kg)。花山麻鸡是利用快大型肉鸡和黄羽肉鸡杂交培育而成的适合屠宰后冷鲜上市的中速型黄羽肉鸡配套系(63—65 日龄上市,平均上市体重 1.9 kg),具有屠体美观、生长速度快、肉质较优等优点。本研究即以慢速型的广西麻鸡和中速型的花山麻鸡作为研究对象,研究其从胚胎期至出生后早期的生长发育特点,以及 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因 IGF1、IGF1R 和 IRS1 在胸腿肌和肝脏中的发育性表达规律,为进一步阐明 IGF1-PI3K-AKT 信号通路影响黄羽肉鸡肌肉发育的分子机理提供一定的参考,为黄羽肉鸡“分子编写育种”提供一定的遗传学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间、地点

本试验于 2019 年 4—8 月在扬州江苏省家禽科学研究所养殖基地和家禽遗传育种重点实验室进行。

### 1.2 试验动物

广西麻鸡种蛋来源于广西富凤农牧有限公司广西麻鸡保种群,花山麻鸡种蛋来源于江苏兴牧农业科技有限公司育种群。种蛋孵化前,进行称重、消毒和编号,品种内蛋重变异系数在 5%以内。2 个品种种蛋随机置入同一孵化箱,在相同条件下(温度为 37.5—37.8℃,相对湿度为 65%—75%)同时孵化。出雏后,在统一的条件下饲养至 63 日龄。种蛋入孵后的 24 h 设定为 1 胚龄,分别于 9 个时间点(9 胚龄、12 胚龄、16 胚龄和出雏后 0 日龄、7 日龄、21 日龄、35 日龄、49 日龄和 63 日龄)采样,胚胎期种蛋用解剖刀刀柄敲碎钝端蛋壳,以无菌镊子移去蛋壳,换一无菌镊子轻夹胚胎颈部取出鸡胚放置准备好的吸水纸上,然后移至称量纸记录胚重(或体重),将一侧腿去爪后带骨称重,一侧胸带骨分离并称重。采集另一侧胸大肌和腿肌同一部位组织样品,采集肝脏称重后,置于液氮速冻,然后转入-80℃冰箱保存。每个时间点每个品种采样

20 只, 胚胎期利用 CHD1 基因多态性鉴别公母, 出雏后根据性腺组织判别公母。性别鉴定后, 每个时间点每个品种选取母鸡 6 只用于测定。

1.3 总 RNA 提取和 cDNA 合成

肌肉总 RNA 提取按 TRNzol Universal 总 RNA 提取试剂 (DP424) (天根, 北京) 的说明书进行。RNA 样品经琼脂糖凝胶电泳鉴定总 RNA 完整性后, 采用核酸定量仪 NanoDrop2000 (Thermo scientific, 美国) 测定浓度及根据 A260nm/A280nm 值确定 RNA 纯度。取 2 μg 总 RNA, 按照 cDNA 第一链合成试剂盒 HiScript III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) (R323-01) (诺唯赞, 南京) 的使用说明书进行 cDNA 第一链的合成, RT 产物保存在-20℃备用。

1.4 引物设计

选择鸡肌肉特异性内参基因 HSP70 作为本研究的内参基因<sup>[17]</sup>。根据 GenBank 中鸡的 IGF1 (GenBank 登录号: NM\_001004384.2)和 IGF1R (GenBank 登录号: NM\_205032.1)相关 cDNA 序列设计引物, IRS1 引物参考 LI 等<sup>[16]</sup>报道的序列进行设计, 由上海英俊生物工程有限公司合成, 引物信息见表 1。

表 1 基因引物序列

Table 1 Gene-specific primers for quantitative RT-PCR

基因名称 Gene name	引物序列 Primer sequence	PCR 条件 PCR conditions (℃)
IGF1	5' primer: AGCTGGTTGATGCTCTTCAGTTCGT	60
	3' primer: TCCTCAGGTCACAACTCTGGAAGC	
IGF1R	5' primer: TTCAGGAACCAAAGGGCGA	55
	3' primer: TGTAATCTGGAGGGCGATACC	
IRS1	5' primer: CTACCGCTGTGCCTGACTAAC	60
	3' primer: CGTCCACCTCGATGAAGAAG	
HSP70	5' primer: TCTGCTCTGTTGGATGTC	60
	3' primer: TGGGAATGGTGGTGTTACG	

1.5 实时荧光定量 PCR

荧光定量 PCR 采用 SYBR Green I 法, 参照 ChamQ SYBR Color qPCR Master Mix (Q411-02) (诺唯赞, 南京) 试剂盒说明书进行。将每个待测样品 cDNA 产物取等体积混合后, 用混合样做模板, 对实时荧光定量 PCR 的退火温度、引物浓度、模板浓度等条件进行优化。20 μL 的反应体系如下: 2×ChamQ SYBR Color

qPCR Master Mix 10 μL, 上下游引物 (10 μmol·L<sup>-1</sup>) 各 0.4 μL, 50×ROX Reference Dye2 0.4 μL, 模板 2 μL, 加 ddH<sub>2</sub>O 至 20 μL。反应条件为: 95℃ 30 s; 95℃ 10 s, 55℃或 60℃ 30 s, 95℃ 15 s, 40 个循环; 95℃ 15s, 60℃ 60 s, 95℃ 15 s。每次反应均设空白样品为阴性对照, 每个样品设置 3 个平行。

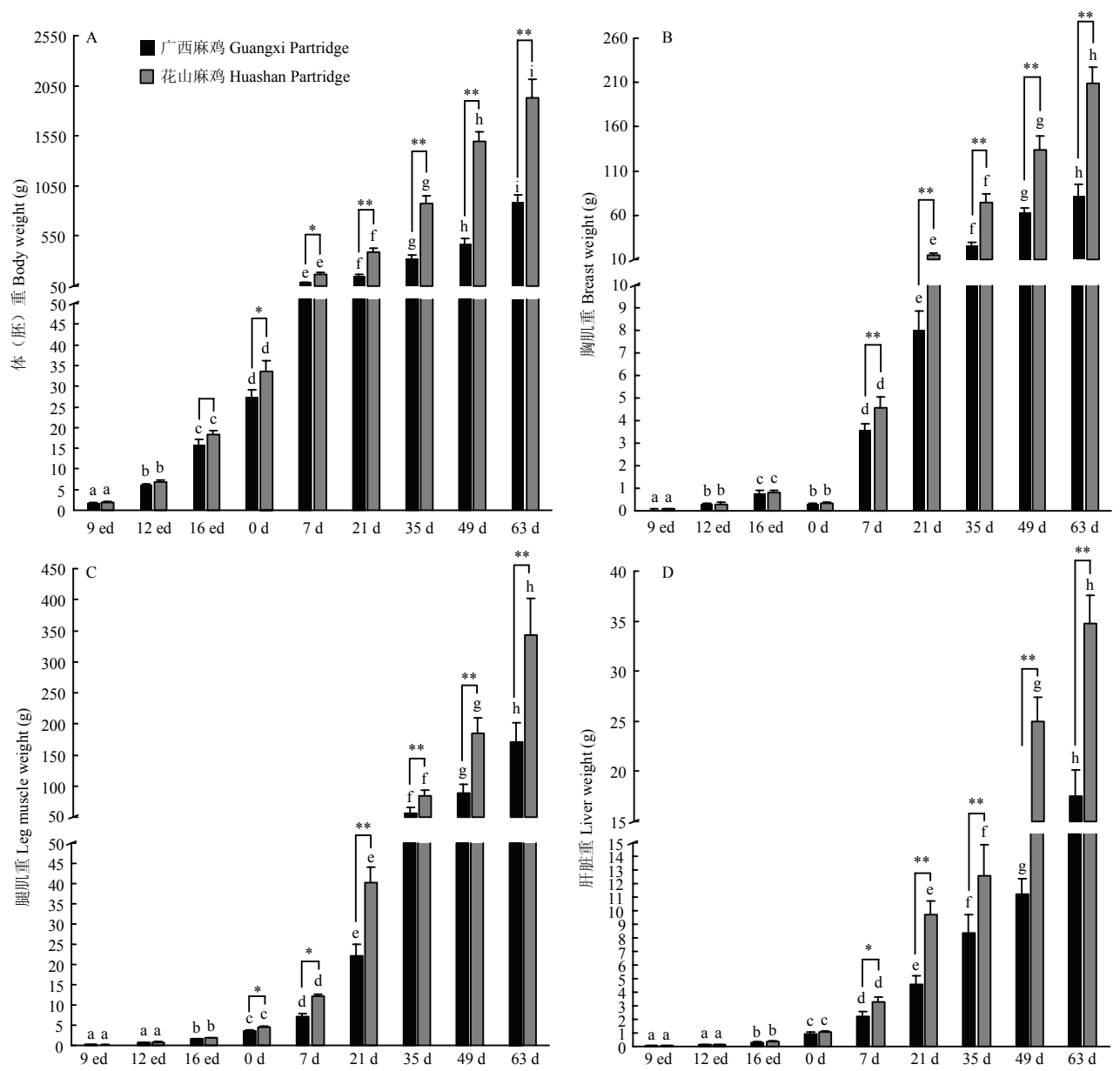
1.6 统计分析

定量的结果采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法进行处理, 分析基因的相对表达量。将广西麻鸡 0 日龄设为对照组, ΔΔCt=ΔCt (其他日 (胚) 龄) -ΔCt (0 日龄)。采用 SPSS 20.0 统计分析软件进行分析, 组间差异显著性用独立样本 T 检验, One-way ANOVA 进行统计分析。Bivariate Correlation 用来分析基因表达之间以及基因表达与生长发育相关性。所有数据以 Mean ± SE 表示, P<0.05, 表示差异显著; P<0.01, 表示差异极显著。

2 结果

2.1 生长速度不同的两个品种鸡生长发育过程中体重、肌肉和肝脏的发育性变化

两个品种鸡生长发育过程中体重的变化如图 1-A 所示, 两个品种体重均呈持续上升态势, 存在显著的胚龄 (日龄) 和品种效应。在所研究的 9 个发育阶段, 花山麻鸡胚重 (体重) 均高于广西麻鸡, 除在 9 和 12 胚龄差异不显著外 (P>0.05), 其他胚龄 (日龄) 均达到显著水平 (P<0.05 或 P<0.01), 尤其表现在出雏后, 花山麻鸡体重的增长速度远快于广西麻鸡。两个品种胸肌重的变化趋势基本一致 (图 1-B), 都是随着胚龄 (日龄) 的增长, 胸肌重量逐渐增加, 值得指出的是, 在 0 日龄 (出雏) 时, 两个品种的胸肌重均显著下降, 显著低于 16 胚龄时的胸肌重 (P<0.05), 与 12 胚龄时的胸肌重量无显著差异 (P>0.05), 从 7 日龄开始, 花山麻鸡的胸肌重均显著高于广西麻鸡 (P<0.05 或 P<0.01)。两个品种腿肌重随日龄的增长持续增加 (图 1-C), 品种间比较发现, 总体上花山麻鸡的腿肌重要高于广西麻鸡, 在胚胎期差异不显著, 从出雏开始即表现出显著的差异 (P<0.05 或 P<0.01)。两个品种肝脏重的变化趋势基本一致 (图 1-D), 从 16 胚龄到 63 日龄, 两个品种鸡肝脏重显著 (P<0.05) 递增; 品种间比较发现, 在胚胎期以及出雏时, 两个品种鸡肝脏重相差不显著 (P>0.05), 从 7 日龄开始, 花山麻鸡肝脏重显著 (P<0.05) 或极显著 (P<0.01) 高于广西麻鸡。



A: 体重; B: 胸肌重; C: 腿肌重; D: 肝脏重。ed 表示胚龄, d 表示日龄; 品种内不同胚龄或日龄比较, 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同小写字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ) \*表示同一胚龄的不同品种间差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\*表示同一胚龄的不同品种间差异极显著 ( $P < 0.01$ )

A: Body weight; B: Breast muscle weight; C: Leg muscle weight; D: Liver weight. ed indicates embryonic days, and d indicates age after hatching. Bar diagram values with the same letter are not significantly different between different age ( $P > 0.05$ ), and values with the different letters are significantly different between different ages ( $P < 0.05$ ). Superscript \* indicates significantly different between two breeds in the same age at the level of 0.05, and superscript \*\* indicates significantly different between two breeds in the same age at the level of 0.01

图 1 不同品种鸡生长发育过程中体重、胸肌重、腿肌重和肝脏重的变化

Fig. 1 The profiles of body weight, breast muscle weight, thigh muscle weight and liver weight during growth stages in different chicken breeds

2.2 IGF1 基因在不同鸡种胚胎期和出生后早期胸肌、腿肌和肝脏中的表达规律

IGF1 基因在广西麻鸡和花山麻鸡不同发育阶段胸

肌、腿肌和肝脏中的表达存在显著的胚(日)龄、组织和品种效应, 结果见表 2。胸肌中, 两个品种鸡 IGF1 mRNA 的表达均呈现先升高后降低的表达模式, 在 9

胚龄时表达量较高,到 12 胚龄达到最高,显著高于后续的胚(日)龄( $P<0.05$ ),随后显著下降( $P<0.05$ ),并在后续的发育阶段均维持在较低的水平,63 日龄表达量最低。在腿肌中,两个品种 IGF1 mRNA 的表达变化趋势较为一致,在 9 胚龄时表达量最高,9 胚龄至 12 胚龄基本保持稳定,随后显著下降( $P<0.05$ ),至出雏时降至最低,7 日龄开始回升,随后 21 日龄至 63 日龄基本保持稳定。在肝脏中,广西麻鸡 IGF1 mRNA 的表达呈现先升高后降低的表达模式,胚胎期未检测到表达,出雏即有表达,随后升高,至 21 日龄达到表达高峰,相对表达量为 7 日龄时的 14 倍( $P<0.05$ ),随后维持在较高的表达水平,但 63 日龄又有显著下降( $P<0.05$ )。花山麻鸡肝脏中 IGF1 mRNA 的表达同样呈现先升高后降低的表达模式,在胚胎期表达量极低,9—16 胚龄仅微量表达,出雏时显著升高( $P<0.05$ ),随后持续升高,至 21 日龄表达量显著上调( $P<0.05$ ),相对表达量达到 7 日龄时的 13 倍,接着继续上升,至 49 日龄时达到表达高峰后基本保持稳定。

品种间比较发现,在胸腿肌中,IGF1 mRNA 在广西麻鸡胚胎期至出雏的表达量都显著( $P<0.05$ )或极显著( $P<0.01$ )高于花山麻鸡,而出雏后至 63 日龄,两者差异不显著( $P>0.05$ );而在肝脏中 IGF1 基因则是在花山麻鸡中的表达要高于广西麻鸡,且除 7 日龄差异不显著( $P>0.05$ )外,其他日(胚)龄均达到了显著水平( $P<0.05$ )。组织间比较发现,两品种腿肌中 IGF1 基因各阶段的表达量均高于胸肌组织,在胚胎期,肌肉中 IGF1 基因的表达量均高于肝脏,而在出雏后的各发育阶段,肝脏中 IGF1 基因的表达量要高于肌肉组织,且在肝脏和肌肉中的表达量变化规律截然相反。

### 2.3 IGF1R 基因在不同鸡种胚胎期和出生后早期胸肌、腿肌和肝脏中的表达规律

IGF1R 基因在广西麻鸡和花山麻鸡不同发育阶段胸肌、腿肌和肝脏中的表达存在显著的胚(日)龄、组织和品种效应,结果见表 2。IGF1R 基因在两个品种胸肌中的表达变化趋势较为一致,在 9 胚龄时表达量最高,到 12 胚龄显著下调( $P<0.05$ ),16 胚龄略有升高后持续下调,7 日龄下降幅度最大,达到显著水平( $P<0.05$ ),然后在整个出生后早期表达量均维持在极低水平,值得指出的是,IGF1R 基因在花山麻鸡所研究的发育阶段胸肌中的表达量均极低。IGF1R 基因在两个品种腿肌中的表达模式较为一致,在 9 胚龄时表达量

最高,在广西麻鸡中要显著高于其他胚(日)龄( $P<0.05$ ),而花山麻鸡中除了与 12 胚龄差异不显著外( $P>0.05$ ),与其他胚(日)龄的表达量均达到显著水平( $P<0.05$ ),随后持续下降,在出雏后的各个发育阶段表达量均极低。在肝脏中,广西麻鸡 IGF1R 基因的表达呈现先升高后降低的表达模式,在 9 胚龄时表达量最低,然后持续升高至 21 日龄达到表达高峰后略有下降,但基本保持稳定,总体上出雏(0 日龄)及出雏后的表达量显著高于胚胎期( $P<0.05$ ),21 日龄表达量显著高于 0 日龄( $P<0.05$ ),而与其他日龄差异不显著( $P>0.05$ );花山麻鸡 IGF1R 基因的表达呈现持续升高的表达趋势,9 胚龄表达量最低,随后升高,但整个胚胎期表达量差异不显著( $P>0.05$ ),出雏时显著升高( $P<0.05$ ),随后持续升高,至 63 日龄时达到表达高峰,表达量显著高于其他日(胚)龄( $P<0.05$ ),总体上出雏(0 日龄)及出雏后的表达量显著高于胚胎期( $P<0.05$ )。

品种间比较来看,总体上,IGF1R 基因在广西麻鸡胸腿肌中的表达量要高于花山麻鸡,在胚胎期至出雏达到显著( $P<0.05$ )或极显著( $P<0.01$ )水平,而出雏后品种间差异不显著( $P>0.05$ );而在肝脏中的表达量则是花山麻鸡高于广西麻鸡,在 49 和 63 日龄达到显著水平( $P<0.05$ )。组织间比较发现,总体上两品种腿肌中 IGF1R 基因的表达量高于胸肌组织,胚胎期至出雏(0 日龄),肌肉中 IGF1R 基因的表达量要高于肝脏,而在出雏后的各发育阶段,肝脏中 IGF1R 基因的表达量要高于肌肉组织,且肝脏和肌肉中的表达量变化规律在胚胎期和出生后早期截然相反。

### 2.4 IRS1 基因在不同鸡种胚胎期和出生后早期胸肌、腿肌和肝脏中的表达规律

IRS1 基因在广西麻鸡和花山麻鸡不同发育阶段胸肌、腿肌和肝脏中的表达存在显著的胚(日)龄、组织和品种效应,结果见表 2。在胸肌中,IRS1 基因在两品种鸡中的表达趋势较为一致,在 9 胚龄时表达量最高,在胚胎期至出雏基本维持稳定,到 7 日龄显著下降( $P<0.05$ ),随后均维持在较低水平。在腿肌中,IRS1 基因在广西麻鸡中呈现先下调后上调再下调的表达趋势,9 胚龄时表达量最高,并显著高于其他胚(日)龄( $P<0.05$ ),随后逐渐降低并保持在相对平稳表达状态,63 日龄表达量最低;IRS1 基因在花山麻鸡中呈现先升高后降低的趋势,在 12 胚龄时达到峰值,之后显著降低( $P<0.05$ )并保持平



稳表达状态, 9 胚龄, 12 胚龄表达量显著高于其他胚 (日) 龄 ( $P<0.05$ ), 其他胚 (日) 龄间表达量差异不显著 ( $P>0.05$ )。在肝脏中, 广西麻鸡 *IRS1* 基因的表达呈现先升高后降低的表达模式, 在 9 胚龄时表达量最低, 然后持续升高至 21 日龄达到表达高峰后略有下降, 但基本保持稳定, 总体上出雏 (0 日龄) 及出雏后的表达量显著高于胚胎期 ( $P<0.05$ ), 21 日龄表达量显著高于 0 日龄 ( $P<0.05$ ), 而与其他日龄差异不显著 ( $P>0.05$ ); 花山麻鸡 *IRS1* 基因的表达呈现持续升高的表达趋势, 至 63 日龄时达到表达高峰, 表达量显著高于其他日 (胚) 龄 ( $P<0.05$ ), 总体上出雏 (0 日龄) 及出雏后的表达量显著高于胚胎期 ( $P<0.05$ ), 胚胎期各胚龄间表达量差异不显著 ( $P>0.05$ ), 而出雏后各日龄间差异均达到显著

水平 ( $P<0.05$ )。

品种间比较来看, 总体上, *IGF1R* 基因在广西麻鸡胸腿肌中的表达量要高于花山麻鸡, 在胚胎期至出雏达到显著 ( $P<0.05$ ) 水平, 而出雏后胸肌中除 63 日龄差异显著 ( $P<0.05$ ) 外, 其他日龄点差异均不显著 ( $P>0.05$ ), 腿肌中除 7 日龄和 21 日龄差异显著 ( $P<0.05$ ) 外, 其他日龄点差异均不显著 ( $P>0.05$ )。组织间比较发现, 总体上两品种腿肌中 *IRS1* 基因的表达量高于胸肌组织, 胚胎期至出雏 (0 日龄), 肌肉中 *IRS1* 基因的表达量要高于肝脏, 而在出雏后的各发育阶段, 肝脏中 *IRS1* 基因的表达量要高于肌肉组织, 且肝脏和肌肉中的表达量变化规律在胚胎期和出生后早期截然相反。

表 2 广西麻鸡和花山麻鸡不同发育时期骨骼肌和肝脏中 IGF1、IGF1R 和 IRS1 基因的相对表达量  
Table 2 The relative expression level of IGF1, IGF1R and IRS1 in skeletal muscles and liver of Huashan and Guangxi partridge chickens at different developmental stages

基因	组织	品种	9 ed	12 ed	16 ed	0 d	7 d	21 d	35 d	49 d	63 d
Gene	Tissue	Breed									
IGF1	胸肌 Breast	GXMJ	9.65±1.06 a	9.78±0.37a	5.18±1.07b	1.51±0.33 c	0.27±0.08d	0.19±0.05d	0.14±0.03d	0.06±0.005e	0.05±0.005e
		HSMJ	1.12±0.18b**	1.92±0.26a**	0.98±0.26b**	0.42±0.07c*	0.24±0.08c	0.18±0.05c	0.17±0.03c	0.13±0.04c	0.05±0.004d
	腿肌 Leg	GXMJ	54.92±2.51a	54.77±5.06a	33.20±3.39 b	1.32±0.39c	2.08±0.37cd	2.86±0.44d	2.51±0.48cd	3.42±0.85d	1.58±0.16c
		HSMJ	10.44±1.5a**	10.31±0.2a**	1.77±0.20b**	0.26±0.65c*	2.74±0.57d	1.53±0.26b	3.79±0.86d	2.25±0.42b	1.06±0.18b
	肝脏 Liver	GXMJ	0	0	0	1.23±0.23c	4.02±1.07c	57.62±6.46a	47.84±5.54a	52.47±7.05a	29.81±3.59b
		HSMJ	0.04±0.01e*	0.22±0.02d*	0.31±0.04d	3.02±0.52c*	5.11±1.47c	66.06±6.99b*	74.44±9.4ab*	80.87±12.0a*	79.71±9.1a**
IGF1R	胸肌 Breast	GXMJ	3.50±0.23 a	1.64±0.15b	2.63±0.33b	1.32±0.33 c	0.06±0.01d	0.08±0.01d	0.10±0.02d	0.03±0.00d	0.04±0.00d
		HSMJ	0.45±0.07a**	0.24±0.04b**	0.25±0.06b**	0.17±0.07bc*	0.02±0.00c	0.02±0.00c	0.05±0.00c	0.03±0.00c	0.01±0.00c
	腿肌 Leg	GXMJ	6.14±0.86a	4.21±0.56b	2.31±0.37c	1.18±0.28d	0.46±0.08d	0.37±0.05d	0.49±0.05d	0.30±0.04d	0.21±0.06d
		HSMJ	1.24±0.23a**	1.21±0.27a*	0.18±0.05b**	0.10±0.01b**	0.17±0.02b	0.12±0.02b	0.29±0.06b	0.17±0.02b	0.17±0.01b
	肝脏 Liver	GXMJ	0.15±0.02c	0.16±0.02 c	0.37±0.03c	0.96±0.06b	1.62±0.19ab	1.96±0.27a	1.48±0.16ab	1.54±0.19ab	1.35±0.28ab
		HSMJ	0.21±0.05d	0.36±0.04d	0.50±0.03d	1.21±0.18c	1.77±0.23bc	1.78±0.30bc	1.88±0.24bc	2.60±0.35b*	5.74±0.91a*
IRS1	胸肌 Breast	GXMJ	2.07±0.09a	1.69±0.12a	1.51±0.16a	1.50±0.13a	0.17±0.02b	0.30±0.06b	0.37±0.03b	0.22±0.03b	0.21±0.02b
		HSMJ	0.56±0.05a**	0.39±0.03a*	0.31±0.02a*	0.55±0.06a*	0.09±0.01c	0.16±0.01b	0.21±0.03b	0.13±0.04b	0.02±0.00c*
	腿肌 Leg	GXMJ	5.84±0.59a	4.32±0.49b	1.93±0.11c	1.51±0.04cd	0.79±0.06cd	1.07±0.13cd	0.90±0.10cd	0.80±0.06cd	0.61±0.05d
		HSMJ	2.08±0.26a**	2.28±0.54a*	0.63±0.10b*	0.73±0.04b*	0.26±0.04b*	0.40±0.06b*	0.60±0.09b	0.48±0.07b	0.38±0.04b
	肝脏 Liver	GXMJ	0.09±0.00c	0.22±0.04c	0.10±0.01c	0.92±0.20b	1.80±0.27ab	3.08±0.46a	2.84±0.55a	3.02±0.74a	2.63±0.22a
		HSMJ	0.08±0.00f	0.11±0.01f	0.08±0.01f	0.76±0.13c	1.52±0.11e	2.58±0.15d	3.53±0.53c	6.29±0.73b*	16.05±2.01a*

GXMJ 代表广西麻鸡, HSMJ 代表花山麻鸡; 同一品种不同胚龄或日龄间比较, 字母不同表示差异显著 ( $P<0.05$ ); 同一组织相同胚龄不同品种间比较, \*表示差异达显著水平 ( $P<0.05$ ), \*\*表示差异达极显著水平 ( $P<0.01$ )  
GXMJ represents Guangxi partridge chickens, while HSMJ represents Huashan partridge chickens. In the same breed, values with different lower case letter are significantly different ( $P<0.05$ ) between different embryo age; in the same embryo age, \* indicates there is significantly different between breeds in the same tissue ( $P<0.05$ ), and \*\*indicates there is extremely significantly different ( $P<0.01$ )

**2.5 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因表达的相关性**

为深入了解 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因在鸡骨骼肌和肝脏早期发育过程中的相互作用机制,对 IGF1, IGF1R 以及 IRS1 基因在广西麻鸡和花山麻鸡胸腿肌和肝脏中的表达相关性进行分析见表 3。由表可见,3 个基因在两品种的胸腿肌和肝脏中均表现出极显著的正相关关系 ( $P<0.01$ ),即 IGF1 基因与 IGF1R 基因表达水平之间存在极显著的正相关 ( $P<0.01$ ),IGF1 和 IRS1 基因表达水平之间存在极显著的正相关 ( $P<0.01$ ),IGF1R 和 IRS1 基因表达水平之间存在极显著的正相关 ( $P<0.01$ ),这些结果表明所研究的 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因之间存在显著的正调控关系。

**2.6 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因表达量与生长性状的相关性**

IGF1-PI3K-AKT 信号通路对于动物的生长发育起到重要作用,但在不同物种中其作用方式也不同,目前在黄羽肉鸡中尚未见该信号通路对生长发育作用的系统报道,故本研究进一步对 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因表达量与体重等生长性状的相关性进行了分析,详见表 4。由表可见,IGF1, IGF1R 以及 IRS1 基因在两个品种鸡胸肌和腿肌中的表达量均与体重、胸(腿)肌重呈显著或极显著的负相关 ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ),而在肝脏中的表达量与体重、胸肌重、腿肌重、肝脏重呈显著或极显著的正相关 ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ )。

表 3 广西麻鸡和花山麻鸡骨骼肌和肝脏中 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因表达的相关性

Table 3 Correlations between IGF1-PI3K-AKT signaling pathway genes in skeletal muscles and liver of the two chicken breeds

参数 Parameters		广西麻鸡 Guangxi Partridge		花山麻鸡 Huashan Partridge	
		IGF1R	IRS1	IGF1R	IRS1
胸肌 Breast muscle	IGF1	0.851**	0.641**	0.418**	0.457**
	IRS1	0.806**		0.648**	
腿肌 Leg muscle	IGF1	0.884**	0.873**	0.719**	0.670**
	IRS1	0.854**		0.884**	
肝脏 Liver	IGF1	0.494**	0.682**	0.489**	0.389**
	IRS1	0.759**		0.911**	

\*\*表示极显著相关 ( $P<0.01$ ) \*\* shows that there are extreme significant relationship between two different index ( $P<0.01$ )

表 4 不同鸡种 IGF1-PI3K-AKT 信号通路相关基因表达量与生长性状的相关性

Table 4 Correlations between the expression of IGF1-PI3K-AKT signaling pathway genes and growth traits in the two chicken breeds

组织 Tissue	参数 Parameters	广西麻鸡 Guangxi Partridge			花山麻鸡 Huashan Partridge		
		IGF1	IGF1R	IRS1	IGF1	IGF1R	IRS1
胸肌 Breast muscle	体重 Body weight	-0.453**	-0.537**	-0.467**	-0.519*	-0.430**	-0.594**
	胸肌重 Breast weight	-0.405**	-0.483**	-0.424**	-0.441**	-0.361**	-0.542**
腿肌 Leg muscle	体重 Body weight	-0.413**	-0.471**	-0.451**	-0.389**	-0.332**	-0.370**
	腿肌重 Leg weight	-0.377**	-0.435**	-0.417**	-0.362**	-0.284*	-0.321**
肝脏 Liver	体重 Body weight	0.369*	0.965**	0.817**	0.693**	0.781**	0.817**
	肝脏重 Liver weight	0.458**	0.409**	0.851**	0.601**	0.794**	0.851**
	胸肌重 Breast weight	0.352**	0.453**	0.783**	0.563**	0.696**	0.752**
	腿肌重 Leg weight	0.365**	0.483**	0.812**	0.598**	0.723**	0.795**

\*表示显著相关 ( $0.01<P<0.05$ ); \*\*表示极显著相关 ( $P<0.01$ )

\* shows that there are significant relationship between two different index ( $0.01<P<0.05$ ); \*\* shows that there are extreme significant relationship between two different index ( $P<0.01$ )



### 3 讨论

黄羽肉鸡是我国传统消费习惯形成的特殊消费食品, 现已成为优质肉鸡的代名词, 按生长速度可分为快速型(50—60 d 出栏)、中速型(60—90 d 出栏)和慢速型(90 d 以上出栏)。黄羽肉鸡肉质好, 但生长速度慢, 产肉量少, 因此, 如何提高黄羽肉鸡产肉量和生产效率, 是国内肉鸡育种工作者急需解决的问题。本研究选用慢速型的广西麻鸡和中速型的花山麻鸡作为研究黄羽肉鸡肌肉生长发育的试验模型, 发现在所研究的发育阶段, 两个品种的体重、腿肌重和肝脏重均呈持续增长趋势, 而胸肌重则在胚胎发育晚期出现负增长现象, 与课题组在清远麻鸡上的研究结果一致<sup>[17]</sup>, 也与禽类孵化后期组织和器官发育特点相符, 即家禽孵化后期, 由于尿囊的氧供应能力及营养供应达到极限, 机体需要进行糖酵解、糖异生等糖代谢提供能量, 因此, 此阶段肝脏快速发育以满足代谢需要<sup>[18]</sup>; 胸肌是肝脏外糖原贮存的另一重要组织, 在孵化后期当能量发生危机时, 胸肌中蛋白质发生动员为糖的异生提供氨基酸底物, 因此胚胎晚期鸭<sup>[18-20]</sup>、火鸡<sup>[21]</sup>等家禽胸肌会出现质量减轻。本试验发现鸡生长发育早期体重、骨骼肌重和肝脏重变化呈现显著的品种和时间特异性, 经过选育的中速型花山麻鸡体重和组织重的增长在胚胎发育后期已经远远超过慢速型的广西麻鸡, 说明遗传背景的差异是影响黄羽肉鸡生长发育的重要因素。

本研究发现生长速度不同的黄羽肉鸡胚胎期和生后期肌肉和肝脏中 IGF1-PI3K-Akt 通路关键基因 IGF1、IGF1R 和 IRS1 的表达差异。总体上, 在同一鸡种的同一个部位, 3 个基因的表达规律是一致的, 在肌肉中表现出胚胎期表达量较高, 出雏后下降的趋势, 而在肝脏中则表现出胚胎期表达量较低, 出雏后快速上调的趋势; 相关性分析证实所研究的基因两两之间均存在极显著的正相关关系( $P < 0.01$ ), 提示所研究的 3 个基因在鸡胚胎期及出生后早期表达存在一致性, 充分说明 3 个基因在功能上有着密切的关系。该结果进一步验证了前人的研究结果, IGF1 结合并激活 IGF1R, IGF1R 活化后, 促进 IRS1 磷酸化, 磷酸化的 IRS1 进一步激活 PI3K 和 Akt, 进而使整个 IGF1 信号通路活化<sup>[3,9]</sup>。

胰岛素样生长因子 1 (IGF1) 是动物体内最重要

的生长因子之一, 动物体内近乎所有器官的生长和功能都与其有关<sup>[22]</sup>。IGF1 可以通过 IGF1/IGF1R/PI3K/Akt 信号通路促进骨骼肌干细胞的增殖、肌细胞的分化以及成肌细胞融合为肌管<sup>[3,23]</sup>。本研究发现, 在所研究的发育阶段, 骨骼肌中均能检测到 IGF1 基因的表达, 总体上胚胎期的表达水平高于出雏后, 然而在两个品种鸡胸肌和腿肌中的表达趋势并不一致, 胸肌中 IGF1 表达高峰出现在 12 胚龄, 腿肌中则在 9 胚龄即出现表达高峰, 说明 9 胚龄至 12 胚龄很可能是鸡胸腿肌早期发育中的一个快速生长点, 这一阶段是初级纤维形成的时期, IGF1 基因在这一阶段的高表达也表明该基因可能对成肌细胞增殖的作用更大。另外由于胸肌和腿肌的发育依赖于不同的生肌程序和发育通路, 相对于腿肌而言, 胸肌属于晚熟部位, 且胸腿肌在肌纤维类型组成上存在差异<sup>[24-25]</sup>, 这可能是 IGF1 基因在胸腿肌中的差异表达原因所在。肝脏是禽类出生后分泌 IGF1 的主要场所, 肝脏中分泌 IGF1 不足将直接导致机体循环中 IGF1 浓度降低, 从而影响动物的生长。本研究中, IGF1 在两品种鸡胚胎期肝脏中的表达量均极低或者无表达, 出雏开始表达量迅速升高, 与 KIKUCHI 等<sup>[26]</sup>在鸡上的研究结果一致。IGF1 基因的表达存在品种和组织差异, 在胚胎期至出雏, 广西麻鸡胸肌和腿肌中的表达量要显著高于花山麻鸡, 出雏后品种间差异不显著; 而在肝脏中 IGF1 基因在花山麻鸡中的表达量除 7 日龄外均显著高于广西麻鸡。组织间比较发现, 胚胎期两品种鸡 IGF1 表达量均为腿肌 > 胸肌 > 肝脏, 而出雏后则为肝脏 > 腿肌 > 胸肌, 该结果与 DUPONT<sup>[27]</sup>的结论一致, 即禽类胚胎期血液中 IGF1 的来源与出雏后的来源不同, 出生后 IGF1 的主要来源是肝组织, 而在胚胎发育期间 IGF1 主要来源于肝外组织。

IGF1R 基因在两品种鸡胸肌和腿肌中的表达趋势较为一致, 均在 9 胚龄时表达量最高, 然后持续下降并维持在较低的水平, 与本课题组在清远麻鸡上的研究结果<sup>[17]</sup>以及在猪背最长肌上发现 IGF1R mRNA 的表达随年(胎)龄增加而减少的结果<sup>[28]</sup>一致。在胚胎期至出雏, 广西麻鸡胸腿肌中的表达量均显著高于花山麻鸡, 我们推测 IGF1R 基因跟 IGF1 基因功能一致, 在成肌细胞的增殖中发挥重要作用。在所研究的发育阶段肝脏中均能检测到 IGF1R mRNA 的表达, 同样表现为出生后的表达量显著高于胚胎期, 两个品种均是 9 胚龄时表达量最低, 但高峰期存在品种

差异,花山麻鸡 63 日龄最高,与其他各阶段差异显著,广西麻鸡则 21 日龄时表达量最高,且总体上花山麻鸡中的表达量要高于广西麻鸡,这也可能与不同生长速度黄羽肉鸡的生长发育规律有关,说明肝脏中 IGF1R 基因及其表达产物可能对鸡的生长发育有着重要的调节作用。

IRS1 在介导 IGF1 信号转导中发挥重要作用,是 IGF1 对生物机体肌肉生长、分化调节功能的必需蛋白分子<sup>[29]</sup>。目前对鸡 IRS1 基因及其在不同组织中的表达规律等报道较少。本研究发现,在两品种鸡的各个发育阶段均能检测到 IRS1 mRNA 的表达,且表达模式存在品种、组织和胚(日)龄差异,在胚胎期胸腿肌中的表达量要高于出生后,表达高峰同样出现在 9 胚龄或 12 胚龄,说明 IRS1 可能对促进成肌细胞增殖具有重要作用,这也与 LI 等<sup>[16]</sup>研究结论一致。IGF1、IGF1R 和 IRS1 基因在胸腿肌中均表现在 9 胚龄或 12 胚龄高表达,说明这 3 个基因在骨骼肌纤维的形成过程中发挥了重要作用。IRS1 基因在两品种鸡胚胎期肝脏中的表达量均维持在较低的水平,9 胚龄时表达量最低,从出雏开始即显著上调,广西麻鸡 21 日龄时表达量达到最高,而花山麻鸡则到 63 日龄达到最高,可能与两个品种鸡的生长发育规律相关。

IGF1、IGF1R 和 IRS1 等 3 个基因在骨骼肌中的表达量与两品种鸡的体重和肌肉生长呈显著或极显著的负相关关系,再一次说明鸡骨骼肌中 IGF1-PI3K-Akt 通路相关基因是在促进胚胎期肌纤维形成而非肌纤维肥大中发挥作用。肝脏中 3 个基因的表达量与广西麻鸡和花山麻鸡的体重、胸肌重、腿肌重以及肝脏重则呈显著或极显著的正相关关系,与荣华等<sup>[30]</sup>在大围山微型鸡、本课题组在鸭<sup>[20]</sup>上的研究结果一致,说明在禽类生长发育过程中,IGF1 信号通路发挥着重要作用,而肝脏则是重要的分泌器官。为了更深入了解 IGF1-PI3K-Akt 信号通路基因对不同类型黄羽肉鸡生长发育的调控规律,今后还应从蛋白水平上分析基因表达与生长性状的关系。

## 4 结论

本试验利用实时荧光定量 PCR 探究了 IGF1-PI3K-Akt 信号通路相关基因 IGF1、IGF1R 和 IRS1 在慢速型的广西麻鸡和中速型的花山麻鸡不同发育时段肌肉和肝脏中的表达量差异,研究结果表明上述 3 个基因表达存在品种、胚(日)龄和组织差异,在相同品种

同一组织中表达模式趋于一致,在肌肉中表现出胚胎期表达量较高,出雏后下降的趋势,而在肝脏中则表现出胚胎期表达量较低,出雏后快速上调的趋势,3 个基因表达之间的正相关关系也充分说明 3 个基因在功能上有着密切的关系,存在正向调控机制,而品种间表达量的差异可能与不同类型黄羽肉鸡的生长发育有关,提示这 3 个基因可能对鸡生长发育具有一定的调控作用,为进一步研究 IGF1-PI3K-Akt 信号通路在黄羽肉鸡生长发育过程中发挥的功能与表达调控机理提供了新的思路。

## 参考文献 References

- [1] 王志祥. 固始鸡与肉鸡、蛋鸡肉质、生长、代谢及相互关系的比较研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.  
WANG Z X. Comparison studies on meat quality, growth, metabolism and relationships among Gushi, broiler and layer chicks [D]. Beijing: China Agricultural University, 2004. (in Chinese)
- [2] 周大薇. 矮小型与正常型鸡体型性状和内脏器官发育的比较研究. 四川畜牧兽医, 2013, 276(9):17-19.  
ZHOU D W. Comparison and investigation on the body type traits and development of internal organs between dwarf chicken and ordinary chicken. Sichuan Animal & Veterinary Sciences, 2013, 276(9):17-19. (in Chinese)
- [3] SCHIAFFINO S, MAMMUCARI C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/ PKB pathway: insights from genetic models. Skeletal Muscle, 2011, 1: 4.
- [4] SCHIAFFINO S, DYAR KA, CICILIOT S, BLAAUW B, SANDRI M. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. FEBS Journal, 2013, 280(17): 4294-4314. <https://doi.org/10.1111/febs.12253>.
- [5] TILLEY R E, MCNEIL C J, ASHWORTH C J, PAGE K R, MCARDLE H J. Altered muscle development and expression of the insulin-like growth factor system in growth retarded fetal pigs. Domestic Animal Endocrinology, 2007, 32(3): 167-177.
- [6] AGROGIANNIS, G D, SIFAKIS S, PATSOURIS E S, KONSTANTINIDOU A E. Insulin-like growth factors in embryonic and fetal growth and skeletal development (Review). Molecular Medicine Reports, 2014, 10(2): 579-584.
- [7] WANG Y, BAI X J, WANG Z X, CAO J, DONG Y L, DONG Y J, CHEN Y X. Various led wavelengths affected myofiber development and satellite cell proliferation of chick embryos via the IGF-1 signaling pathway. Photochemistry and Photobiology, 2017, 93(6): 1492-1501.

- [8] JONES J I, CLEMMONS D R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Reviews*, 1995, 16(1): 3-34.
- [9] WEEKS K L, BERNARDO B C, OOI JENNY Y Y, PATTERSON N L, MCMULLEN J R. The IGF1-PI3K-Akt signaling pathway in mediating exercise-induced cardiac hypertrophy and protection. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2017, 1000: 187-210.
- [10] VALENTINIS B, ROMANO G, PERUZZI F. Growth and differentiation signal by the insulin like growth factor binding I receptor in hemopoietic cells are mediated through different pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(18): 12423-12430.
- [11] KALISTA S O, SCHAKMAN H G, LAUSE B P. The type I insulin-like growth factor receptor (IGF-IR) Pathway is mandatory for the follistatin-induced skeletal muscle hypertrophy. *Endocrinology*, 2012, 153: 241-253.
- [12] BELFORE A, FRASCA F, PANDINI G, SCIACCA L, VIGNERI R. Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. *Endocrine Reviews*, 2009, 30(6): 586-623.
- [13] MAVALLI M D, DIGIROLAMO D J, FAN Y, RIDDLE R C, CAMPBELL K S, VAN GROEN T, FRANK S J, SPERLING M A, ESSER K A, BAMMAN M M. Distinct growth hormone receptor signaling modes regulate skeletal muscle development and insulin sensitivity in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 2010, 120: 4007-4020.
- [14] DONG X C, PARK S, LIN X Y, KYLE C, YI X J, WHITE M F. Irs1 and Irs2 signaling is essential for hepatic glucose homeostasis and systemic growth. *Journal of Clinical Investigation*, 2006, 116(1): 101-114.
- [15] TAMEMOTO H, KADOWAKI T, TOBE K, SAKURA H, HAYAKAWA T, TERAUCHI Y, UEKI K, KABURAGI Y, SATOH S. Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature*, 1994, 372(6502): 182-186.
- [16] LI Z H, CAI B L, ABDALLA B A, ZHU X N, ZHENG M, HAN P G, NIE Q H, ZHANG X Q. LncIRS1 controls muscle atrophy via sponging miR-15 family to activate IGF1-PI3K/AKT pathway. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 2019, DOI: 10.1002/jcsm.12374.
- [17] 盛中伟, 姬改革, 刘一帆, 巨晓军, 单艳菊, 邹剑敏, 章明, 屠云洁, 束婧婷. 鸡生长发育早期骨骼肌 IGF1R mRNA 表达规律研究. *浙江农业学报*, 2020, 32(7): 1160-1165.
- SHENG Z W, JI G G, LIU Y F, JU X J, SHAN Y J, ZOU J M, ZHANG M, TU Y J, SHU J T. Study on mRNA expression pattern of IGF-1R gene in chicken skeletal muscles during early development. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2020, 32(7): 1160-1165. (in Chinese)
- [18] 陈伟. 孵化后期外源二糖和谷氨酰胺调控肉鸭骨骼肌蛋白质代谢机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- CHEN W. Study on the regulatory role of administrating exogenous disaccharide and glutamine to late-term duck embryos in affecting the protein metabolism in skeletal muscle [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010. (in Chinese)
- [19] CHEN W, TANGARA M, XU J, PENG J. Developmental transition of pectoralis muscle from atrophy in late-term duck embryos to hypertrophy in neonates. *Experimental Physiology*, 2012, 97(7): 861-872.
- [20] 束婧婷, 朱文奇, 单艳菊, 陈文峰, 徐文娟, 胡艳, 宋迟, 李慧芳, 王金玉. 胰岛素样生长因子系统基因在不同鸭种发育早期肝和肌肉中的表达. *畜牧兽医学报*, 2014, 45(2): 183-190.
- SHU J T, ZHU W Q, SHAN Y J, CHEN W F, XU W J, HU Y, SONG C, LI H F, WANG J Y. Expression of insulin-like growth factor system genes in liver and breast muscle tissue during early development of different duck breeds. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2014, 45(2): 183-190. (in Chinese)
- [21] MOORE D T, FERKET P R, MOZDZIAK P E. Muscle development in the late embryonic and early post-hatch poultry. *International Journal of Poultry Science*, 2005, 4(3): 138-142.
- [22] 邢海权, 闫梦菲. 2011. 胰岛素样生长因子 IGF-1 的研究进展. *畜禽业*, 2011, 8: 36-37.
- XING H Q, YAN M F. Progress in research on insulin-like growth factor IGF-1. *Livestock and Poultry Industry*, 2011, 8: 36-37. (in Chinese)
- [23] ROMMEL C, BODINE S C, CLARKE B A, ROSSMAN R, NUNEZ L, STITT T N, YANCOPOULOS G D, GLASS D J. Mediation of IGF-1- induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. *Nature Cell Biology*, 2001, 3: 1009-1013.
- [24] 束婧婷, 宋迟, 徐文娟, 章明, 单艳菊, 陈文峰, 宋卫涛, 陶志云, 李慧芳. IGF-I-CaN-NFATc3 信号通路相关基因在鸭发育早期骨骼肌中的同步表达规律及其与肌纤维性状的相关性. *中国农业科学*, 2015, 48(6): 1195-1204.
- SHU J T, SONG C, XU W J, ZHANG M, SHAN Y J, CHEN W F, SONG W T, TAO Z Y, LI H F. Expression profile of IGF-I-calcineurin-NFATc3-dependent pathway genes in skeletal muscles and their associations with myofiber traits during embryonic and early post-hatching development in ducks. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015,

- 48(6): 1195-1204. (in Chinese)
- [25] 蒋明雅, 邹小利, 罗文, 张细权. 不同生长速度型鸡胚胎发育后期肌纤维形态学对比分析. 中国家禽, 2017, 39(16): 10-16.
- JIANG M Y, ZOU X L, LUO W, ZHANG X Q. Skeletal muscle fiber morphological comparative study in chickens with different growth rate during the late embryonic development. China Poultry, 2017, 39(16): 10-16. (in Chinese)
- [26] KIKUCHI K, BUONOMO F C, KAJIMOTO Y, ROTWEIN P. Expression of insulin-like growth factor-I during chicken development. Endocrinology, 1991, 128(3):1323-1328.
- [27] DUPONT J, HOLZENBERGER M. Biology of insulin-like growth factors in development. Birth Defects Research (Part C), 2003, 69: 257-271.
- [28] CARTER A M, KINGSTON M J, HAN K K, MAZZUCA D M, NYGARD K, HAN V K M. Altered expression of IGFs and IGF-binding proteins during intrauterine growth restriction in guinea pigs. Journal of Endocrinology, 2005, 184: 179-189.
- [29] RONDINONE C M, WANG L M, LONNROTH P, WESSLAU C, PIERCE J H, SMITH U. Insulin receptor substrate (IRS) 1 is reduced and IRS-2 is the main docking protein for phosphatidylinositol 3-kinase in adipocytes from subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 1997, 94(8): 4171-4175.
- [30] 荣华, 豆腾飞, 张丽春, 李丽红, 万全书, 何昌明, 赵平, 葛长荣, 刘丽仙, 赵素梅, 李琦华, 贾俊静. 大围山微型鸡 IGF-1 基因表达量与生长性状的相关性分析. 中国家禽, 2015, 37(4): 5-8.
- RONG H, DOU T F, ZHANG L C, LI L H, WAN Q S, HE C M, ZHAO P, GE C R, LIU L X, ZHAO S M, LI Q H, JIA J J. Correlation analysis on IGF-1 gene expression and growth traits in Daweishan Mini Chicken. China Poultry, 2015, 37(4): 5-8. (in Chinese)

(责任编辑 林鉴非)