

GnRH 主动去势免疫对公猪肝脏脂肪代谢的影响

王作伟 韩兴发 杜小刚 曾宪垠 曹晓涵*

(四川农业大学 生命科学学院,四川 雅安 625014)

摘要 为研究促性腺激素释放激素(GnRH)主动免疫对公猪肝脏脂肪代谢关键基因转录水平和酶含量的影响,选用 36 头公猪随机分为对照组、免疫组和手术组($n=12$),测定血清睾酮、甘油三酯、血糖及肝脏组织中脂肪代谢关键酶含量,实时荧光定量 PCR 分析肝脏组织关键基因 mRNA 表达变化。结果显示:GnRH 主动免疫后公猪血清甘油三酯含量呈上升趋势,血清睾酮含量显著下降($P<0.05$)。与对照组公猪相比,免疫去势显著提高肝脏脂肪酸合成酶(FAS)及乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)含量($P<0.05$),且显著提高肝脏 FAS、ACC、微粒体甘油三脂转运蛋白(MTTP)基因 mRNA 表达水平($P<0.05$),显著下调激素敏感酯酶(HSL)与过氧化物酶体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ)基因 mRNA 表达水平($P<0.05$)。但免疫公猪血清甘油三酯含量及肝脏 FAS、ACC、固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c)mRNA 表达仍显著低于手术去势公猪相应指标($P<0.05$)。上述结果表明,GnRH 主动免疫提高了公猪肝脏脂肪合成能力,但其脂肪合成能力仍低于传统手术去势公猪。

关键词 促性腺激素释放激素;主动免疫;肝脏;脂肪代谢;公猪

中图分类号 S 828.9⁺1; S 852.2; S 852.4⁺3 文章编号 1007-4333(2016)08-0077-07 文献标志码 A

Effects of active immunization against GnRH on hepatic lipid metabolism in male pig

WANG Zuo-wei, HAN Xing-fa, DU Xiao-gang, ZENG Xian-yin, CAO Xiao-han*

(College of Life Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract Thirty-six male pigs were randomly allocated to three experimental groups ($n = 12$): immunocastrates, surgical castrates and intact controls. Serum concentrations of testosterone, triglyceride and glucose and lipid metabolism enzyme in the liver were determined. The mRNA expressions of metabolism-related genes in the liver were quantified by real-time fluorescence quantitative PCR technique. The results showed that: Active immunization against GnRH increased serum triglyceride, significantly reduced serum testosterone ($P < 0.05$); Compared with intact controls, immunocastration of male pig significantly increased the capacity of fatty acid syntheses (FAS) and acetyl CoA-carboxylase (ACC) ($P < 0.05$), and mRNA expression levels of FAS, ACC and microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) ($P < 0.05$); However, significantly reduced the levels of hormone sensitive lipase (HSL) and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) in the liver ($P < 0.05$) while the serum triglyceride concentrations and hepatic FAS, ACC and sterol regulatory element binding proteins-1c (SREBP-1c) mRNA levels in immunocastrates were still significantly lower than in surgical castrates. Taken together, active immunization against GnRH improves the capacity of fat synthesis in the liver, but which is still remained at a lower level than that of surgical castrates.

Keywords GnRH; active immunization; liver; lipid metabolism; male pig

收稿日期: 2015-09-21

基金项目: 四川省教育厅重点项目(15ZA0005); 四川农业大学双支计划(00770107)

第一作者: 王作伟, E-mail: xiaoblackdog@sina.com

通讯作者: 曹晓涵, 讲师, 主要从事动物免疫调控研究, E-mail: caoxiaohan@sicau.edu.cn

目前养猪生产中,仍采取传统的外科阉割进行去势,以去除公猪肉中的“膻味”(Boar-taint,主要由睾丸分泌并储存于脂肪组织中的雄烯酮引起)和避免公猪性早熟对生长育肥造成的不利影响^[1]。但传统手术去势方法会带来仔猪应激、剧烈或慢性疼痛、处理不当易伤口感染甚至死亡等问题^[1-2]。促性腺激素释放激素(GnRH)主动免疫作为一种20世纪70年代建立起来的免疫去势技术,能有效解决上述手术去势中的问题^[3]。且相比于手术去势,GnRH主动免疫可有效降低公猪胴体脂肪含量,提高瘦肉率^[3],但GnRH主动免疫降低公猪胴体脂肪含量的原因,即GnRH主动免疫对公猪脂肪代谢的影响目前未见报道。

动物脂肪合成主要发生在肝脏和脂肪组织中,同时肝脏又是控制全身能量平衡和营养代谢的中心器官,是糖脂代谢途径的交汇点及调节中心,研究其脂肪代谢相关基因和酶含量的变化是了解机体脂肪代谢的重要窗口^[4]。肝脏中合成的甘油三脂(Triglyceride, TG)可转运至脂肪组织作为能量长期贮存^[5]。

动物脂肪代谢是脂肪合成和脂肪分解动态平衡的结果,受多种因素影响^[5]。目前已阐明脂肪代谢中一些关键酶的作用如:脂肪酸合成酶(Fatty acid synthetase, FAS)和乙酰-CoA羧化酶(Acetyl CoA-Carboxylase, ACC)是脂肪酸从头合成中关键限速酶^[6];激素敏感酯酶(Hormone sensitive lipase, HSL)是脂肪分解中关键和限速酶^[7];微粒体甘油三酯转运蛋白(Microsomal triglyceride transfer protein, MTTP)在甘油三酯转运中起重要作用^[8]。同时近年来一些与脂肪代谢相关的上游调控基因也被发现证实如:固醇调节元件结合蛋白(Sterol regulatory element binding proteins, SREBPs)、碳水化合物反应元件结合蛋白(Carbohydrate responsive element binding protein, ChREBP)、过氧化物酶体增殖物激活型受体 γ (Peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)等,它们通过影响生脂酶的合成从而影响脂肪酸的合成^[9]。本试验通过对GnRH主动免疫公猪肝脏脂肪代谢相关基因表达量和酶含量变化的研究,阐明GnRH主动免疫对动物肝脏脂肪合成的影响,旨在为GnRH疫苗在生产中的应用提供科学依据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验动物与设计

选取10周龄,健康的杜洛克×大白×长白三元杂交公猪36头,体重为(27.28±3.44) kg,随机分为对照组、免疫组和手术组,每组12头,组内设3个重复,每个重复4头。试验期间,试验猪采取群饲、颗粒饲料饲喂、自由饮水和采食,常规饲养管理,每个重复同栏饲养,严格按常规程序定期打扫,保持猪舍内清洁、干燥和温暖。饲料均购自四川通威集团。

1.2 动物免疫

GnRH主动免疫疫苗制备同本实验室以往制备方式^[10]。每只免疫公猪于10周龄颈部肌肉注射2 mL疫苗,18周龄第二次免疫,注射方法与剂量同初次免疫。对照组公猪不做任何处理,手术组公猪均于出生后1周龄进行手术去势。

1.3 样品采集

剔除试验中生病公猪,其中对照组2头,免疫组与手术组各1头,其余公猪于26周龄进行屠宰。

真空采血管采集颈静脉血,4℃保存过夜,2 000g离心15 min后分离血清于-20℃冰箱保存备用;屠宰后迅速采集肝脏,-80℃保存备用。

1.4 血清睾酮含量测定

血清睾酮含量测定参考文献^[11]方法进行。

1.5 血清生化指标测定

血清甘油三酯、血糖使用全自动生化分析仪(Hitachi 902, Japan)进行测定。所用试剂盒购自北京利德曼生化股份有限公司,相关操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.6 肝脏组织脂肪代谢关键酶含量测定

取一部分肝脏组织液氮研磨后称取2.0 g,加入500 μ L PBS缓冲液(pH=7.4)充分震荡,3 000 r/min离心20 min,仔细收集上清。应用酶联免疫法进行酶含量测定,计算出每克组织中待测酶含量。ELISA试剂盒购自武汉CUSABIO公司,相关操作严格按照试剂盒说明书执行。

1.7 肝脏组织脂肪代谢关键基因测定

取液氮研磨剩余肝脏组织用于基因表达检测,检测采用实时荧光定量PCR方法。通过苯酚-氯仿法提取组织总RNA,琼脂糖凝胶电泳检测检测其完整性以及是否污染。提取合格的总RNA采用反转录试剂盒PrimeScript[®] RT reagent kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)(购于大连宝生物公

司)将其反转录成 cDNA,相关操作严格按照说明书进行。以 cDNA 为模板在特定引物下进行定量检测,所使用的仪器为 CFX96 (BIO-RAD, USA),每个样品重复 3 次,PCR 程序:95 °C 10 s,40 循环

PCR:95 °C 变性 5 s,59~63 °C 退火+延伸 25 s,最后通过融解曲线监测 PCR 扩增产物特异性。

目的基因 mRNA 相对表达采用 Pfaffl 法^[12]进行计算。引物序列及基因扩增效率见表 1。

表 1 引物序列及扩增效率

Table 1 Primer sequences and amplification efficiency

基因 Gene	GeneBank 收录号 GeneBank accession NO.	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物大小/bp Product size	退火温度/°C Annealing temperature	扩增效率/% Amplification efficiency
FAS	EF589048	F:AAGCAGGCGAACACGATG R:GAAGGGAAGCAGGGTTGATG	94	61	82.6
ACC	EU168399	F:AAGGGCTGCCTCTAATG R:GATGTAAGCGCCGAAC	95	59	89.1
HSL	AJ000482	F:CGAGTTTGAGCGGATCATAACAG R:CCGATGCCATGTTTGCTAGAG	104	63	94.0
MTTP	NM_214185	F:GCCGCCATCATTAAAGCAGT R:CTTGCCGTCCTGAGGTGCT	201	60	86.7
SREBP-1c	AY307771	F:GCTGGTCTGGCTGACGAATG R:GCTTGCATGCCTCCAGAA	122	61	89.9
ChREBP	DQ372586	F:GTATGTGGAGCGGAGGAAGAG R:ATGACGGCCTCGGGTTT	93	59	99.3
PPAR γ	AF103946	F:GTGTCAGTTTCGCTCCGTGG R:TCGTGGACGCCATACTTTAGG	120	59	95.3
β actin	NM_031144	F:CACAGCTGAGAGGGAA R:TCAGCAATGCCTGGGTAC	155	60	99.5

1.8 数据处理与分析

采用 Spss 19.0 统计软件单因素方差分析,分别单独统计对照组、免疫组和手术组各项指标,结果以“平均值±标准误”表示。采用 LSD 法进行组间比较, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 血清生化指标变化

与对照组相比,GnRH 主动免疫后显著下调血清睾酮水平($P < 0.05$)(表 2),血清甘油三酯水平有上升趋势($P < 0.1$),但未达到显著水平($P > 0.05$)。与 GnRH 主动免疫相似,手术组与对照组相比显著

下调血清睾酮水平($P < 0.05$),显著上调血清甘油三酯水平($P < 0.05$),血糖水平有上升趋势($P < 0.1$),但未到达显著水平($P > 0.05$)。而与免疫组相比,手术去势组睾酮水平无显著差异($P > 0.05$),甘油三酯水平显著上调($P < 0.05$),血糖水平无显著变化($P > 0.05$)。

2.2 脂肪代谢关键酶含量变化

与对照组相比,GnRH 主动免疫极显著提高肝脏 FAS、ACC 酶含量($P < 0.01$)(表 3)。与 GnRH 主动免疫相似,手术去势与对照组相比显著提高 FAS、ACC 酶含量($P < 0.05$)。与对照组相比,GnRH 主动免疫与手术去势后 HSL 酶含量均无显著差异($P > 0.05$)。

表2 公猪血清相关指标

Table 2 Related serum biochemical index of male pigs

项目 Item	对照组($n=10$) Intact control	免疫组($n=11$) Immunocastrate	手术组($n=11$) Surgical castrate
睾酮/(ng/L) T	5.60±0.45 a	0.15±0.04 b	0.11±0.01 b
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.37±0.02 a	0.42±0.02 a	0.47±0.01 b
血糖/(mmol/L) Glu	4.86±0.47	5.69±0.31	5.91±0.49

注:同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Means with different letters within one row are significantly different ($P<0.05$). Follow the same.

表3 公猪肝脏脂肪代谢相关酶含量

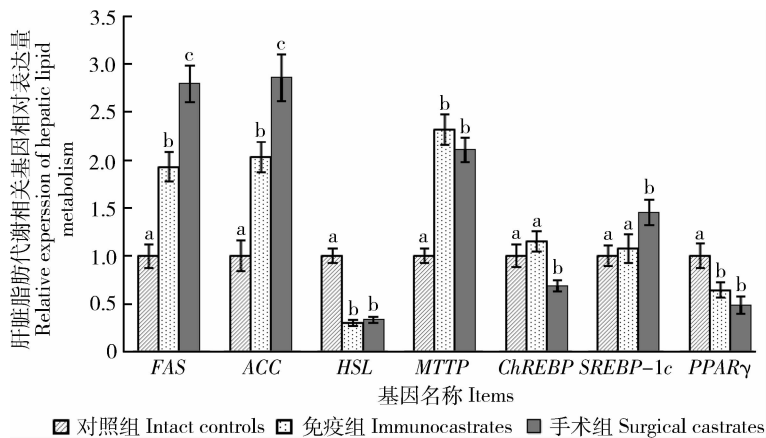
Table 3 The content of lipid metabolism-related enzyme in the liver

项目 Item	对照组($n=10$) Intact control	免疫组($n=11$) Immunocastrate	手术组($n=11$) Surgical castrate
脂肪酸合成酶/(ng/g) (Tissue) FAS	71.44±5.89 a	106.61±12.90 b	114.35±13.16 b
乙酰辅酶A羧化酶/(ng/g) (Tissue) ACC	8.98±0.83 a	15.73±2.25 b	18.77±2.98 b
激素敏感酯酶/(pg/g) (Tissue) HSL	2 054.99±176.61 ab	2 388.20±141.56 a	1 672.47±153.27 b

2.3 脂肪代谢关键基因相对表达量变化

与对照组相比 GnRH 主动免疫显著上调 FAS、ACC、MTTP 基因的 mRNA 表达水平($P<0.05$) (图 1), 显著下调 HSL、PPAR γ 基因表达水平($P<0.05$), ChREBP、SREBP-1c 基因表达变化未达到显著性水平($P>0.05$)。与 GnRH 主动免疫相似, 手术组与对照组相比显著上调 FAS、ACC、

MTTP、SREBP-1c 基因的表达水平($P<0.05$), 显著下调 HSL、PPAR γ 基因的表达水平($P<0.05$), 但显著下调 ChREBP 基因表达水平($P<0.05$)。而与免疫组相比, 手术组显著上调 FAS、ACC、SREBP-1c 基因表达水平($P<0.05$), 显著下调 ChREBP 基因表达水平($P<0.05$), HSL、MTTP、PPAR γ 基因表达水平变化未达到显著水平($P>0.05$)。



同系列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments at $P<0.05$.

图1 GnRH 主动免疫对公猪肝脏脂肪代谢相关基因 mRNA 表达水平的影响

Fig. 1 Effects of active immunization against GnRH on relative mRNA expression levels of hepatic lipid metabolism in boar

3 讨 论

GnRH 主动免疫后,公猪血清睾酮含量显著下降,同时屠宰前也观察到 GnRH 主动免疫组公猪睾丸严重萎缩,这与 Neringa 等^[11]以及本实验室研究结果一致^[13],表明 GnRH 主动免疫效果良好,达到免疫去势目的。

1)FAS 是 1 个多酶复合体,它以乙酰辅酶 A 和丙二酸单酰辅酶 A 为原料合成软脂酸,在脂肪酸从头合成过程中发挥关键作用;ACC 作为脂肪酸合成过程中的限速酶,催化乙酰辅酶 A 羧化为丙二酸单酰辅酶 A 的反应是脂肪酸合成中的限速步骤^[6]。本试验结果显示,与对照组相比,GnRH 主动免疫提高了肝脏 FAS、ACC 的 mRNA 水平,同时肝脏组织中 FAS、ACC 酶含量也明显升高,表明 GnRH 主动免疫后肝脏甘油三酯合成能力增强。而手术组公猪相较 GnRH 主动免疫公猪脂肪合成能力更强,是三组公猪中最强的,这与 Mackay 等^[14]在公猪(补充物种)皮下脂肪上的研究结果一致,与文献中免疫去势相比于手术去势公猪瘦肉率提升和背膘厚降低的现象一致^[3,14]。HSL 是动员脂肪分解的关键酶和限速酶,它将甘油三酯分解为游离脂肪酸,测量组织 HSL 的活性可以衡量脂肪分解情况^[7]。试验结果显示,在基因转录水平,免疫去势和手术去势相比于未去势公猪 mRNA 水平显著下调,同时手术去势公猪 HSL 酶含量也显著下调,表明公猪去势后对肝脏甘油三酯分解产生一定影响。动物体内脂质的转运主要发生在肝脏和小肠中,肝脏合成的 TG 主要与载脂蛋白 B-100(apoB-100)结合形成极低密度脂蛋白(VLDL)进入血液,从而进行 TG 的转运^[8,15]。MTTP 是肝细胞合成 VLDL 所必须的脂质转运蛋白,对 VLDL 的合成和分泌过程中发挥重要作用^[16]。本试验结果显示,与未去势公猪相比,GnRH 主动免疫和手术去势后肝脏 MTTP 基因 mRNA 水平升高,同时血清中甘油三酯的含量也有所升高,与蔡兆伟等人手术去势后公猪血清甘油三酯、VLDL 上升结果一致^[17],表明去势后肝脏脂质转运能力得到提升。机体通过将更多的甘油三酯转运出肝脏,避免脂类在肝脏中聚积。

2)近年来发现的转录因子在脂肪代谢调节中发挥着重要的作用。ChREBP 是碱性螺旋-环-螺旋-亮氨酸拉链(bHLH/ZIP)转录因子家族成员,在糖脂代谢中发挥重要作用,通过作用于 L 型丙酮酸激

酶(L-PK)、ACC、FAS 等基因促进肝脏中糖类向脂质转化^[18],有研究表明敲除 ob/ob 小鼠体内 ChREBP 基因后异常脂质合成基因得到部分纠正^[19];SREBPs 是肝脏参与脂肪酸、甘油三酯、胆固醇代谢最主要的转录调控因子,SREBP 家族包含 -1a、-1c、-2 3 种亚型,其中 SREBP-1c 是肝脏中主要表达的亚型,主要参与对脂肪的合成调控,可直接激活脂肪合成代谢的多个相关基因^[20],肝脏中过表达 nSREBP-1c 基因的转基因小鼠肝脏出现甘油三酯聚积^[21]。本试验结果显示,与对照组相比,免疫去势和手术去势后公猪肝脏 SREBP-1c 基因的表达有逐渐增强趋势,其中手术去势增强达到显著水平,而 SREBP-1c 与其调控的 FAS、ACC 等基因变化趋势一致,证明公猪去势后通过影响转录因子 SREBP-1c 从而影响脂肪代谢;ChREBP 基因作为常与 SREBP-1c 共同出现的调控因子,常与 SREBP-1c 基因表现为一定协同作用^[5],试验中,免疫去势组 ChREBP 基因与 SREBP-1c 基因表现为一定程度协同作用,但有趣的是手术去势组 ChREBP 基因表达相对于对照组显著下调,与试验预期不符,已知 ChREBP 基因在沟通糖脂代谢调控中发挥重要作用,血糖水平对其表达有显著影响^[18],然试验中公猪血糖水平虽有上升趋势但未达到显著水平,故推测可能有其他因素影响该基因表达。PPARs 属于核受体超家族成员,包含 PPAR- α 、PPAR- δ 、PPAR- γ 3 种亚型,其中 PPAR- γ 主要在肝脏和脂肪组织中表达,在脂肪细胞形成和分化过程中发挥重要作用,可直接参与激活脂肪形成的代谢过程,有研究结果显示肝脏中 PPAR- γ 基因的表达与脂肪肝的形成密切相关^[22],同时 PPAR- γ 激动剂也已作为治疗肥胖和二型糖尿病药物出现^[22-23]。本试验结果显示,与对照组相比,免疫去势和手术去势后 PPAR- γ 基因表达显著降低,且手术去势组下调程度更大达极显著水平,有研究发现 PPAR- γ 基因的表达与脂肪含量呈负相关^[24],与本试验结果一致,但也有研究表明 PPAR- γ 基因表达的增加带来脂肪细胞分化增加从而提升脂肪含量^[25],本试验只研究了 PPAR- γ 基因在转录水平变化,未研究蛋白质水平变化,故还需在蛋白质水平上进行更深入研究。

3)动物脂肪发育、脂肪沉积取决于血清 TG 水平,血清 TG 含量反映机体脂类吸收状况^[17],大量试验表明血清 TG 水平与胴体瘦肉率呈负相关^[17,26]。公猪去势后雄激素如睾酮水平下降,影响

生长激素、胰岛素、胰高血糖素等激素水平^[17,27-28],相关激素一方面提高血清 TG 水平,从而直接影响 FAS、ACC、HSL 等与脂肪代谢直接相关酶的活性^[26];另一方面激素和血清 TG 水平改变影响肝脏相关转录因子表达水平,进而影响与脂肪酸和甘油三酯代谢相关基因表达水平和酶含量^[18,20],最终增加公猪体脂沉积。GnRH 主动免疫公猪肉质血清相较于未去势公猪能有效去除“膻味”,而相较于手术去势公猪又能减少脂肪含量提升瘦肉率,同时也有报道表明了 GnRH 主动免疫能提高脂肪中不饱和脂肪酸含量^[14],从而有利于人类身体健康。本试验主要在基因表达水平和相关酶含量水平进行,未研究酶活性和转录因子蛋白含量水平变化,需要进一步深入试验研究。且性激素对相关酶基因表达的影响是否有直接作用,也需要更深入探究^[29]。

4 结 论

GnRH 主动免疫提高了公猪肝脏脂肪合能力,但与传统手术去势公猪相比,其脂肪合成能力仍低于前者。

参 考 文 献

- [1] Aluwé M, Tuytens F A, Millet S. Field experience with surgical castration with anaesthesia, analgesia, immunocastration and production of entire male pigs: Performance, carcass traits and boar taint prevalence[J]. *Animal*, 2015, 9(3): 500-508
- [2] Fredriksen B, Font I, Furnols M, Lundström K, Migdal W, Prunier A, Tuytens F A, Bonneau M. Practice on castration of piglets in Europe[J]. *Animal*, 2009, 3(11): 1480-1487
- [3] 袁亚利. GnRF 疫苗对猪屠宰性能和肉质品质的影响及免疫猪睾丸营养特性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011: 5-6, 22-25
Yuan Y L. Effect of a gonadotropin-releasing factor vaccine on slaughter performance and meat quality in pigs and studying on nutritional characteristics of the testis of vaccinated pig[D]. Nanjing: Nanjing agricultural university, 2011: 5-6, 22-25 (in Chinese)
- [4] 王福, 钱利纯, 崔华伟, 孙建义. 高锌对仔猪肝脏脂肪代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(5): 1200-1206
Wang F, Qian L C, Cui H W, Sun J Y. Effects of High Dietary Zinc Levels on Hepatic Lipid Metabolism in Piglets[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(5): 1200-1206 (in Chinese)
- [5] Xu X, So J S, Park J G, Lee A H. Transcriptional control of hepatic lipid metabolism by SREBP and ChREBP[J]. *Seminars in Liver Disease*, 2013, 33(4): 301-311
- [6] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生化化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 258-267
Wang J Y, Zhu S G, Xu C F. *Biochemistry*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2002: 258-267 (in Chinese)
- [7] 岳颖, 刘爱国, 郑爱娟, 张华, 王晓方, 李婷婷, 卢占军. 生长动物脂肪代谢关键酶基因表达调控[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(2): 232-238
Yue Y, Liu A G, Zheng A J, Zhang H, Wang X F, Li T T, Lu Z J. Modulating the expression of genes regulating key enzymes for lipid metabolism in growing animals[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(2): 232-238 (in Chinese)
- [8] 刘黎, 欧阳冬生. 微粒体甘油三酯转移蛋白的功能及临床意义[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2009, 29(2): 152-155.
Liu L, OuYang D S. Function and clinical significance of microsomal triglyceride transfer proteins [J]. *International Journal of Pathology and Clinical Medicine*, 2006, 4(2): 1007-110 (in Chinese)
- [9] 韩春春. 不同因素诱导鹅肝细胞脂肪变性的机理研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010
Han C C. The study of goose hepatocellular steatosis induced by several factors[D]. Ya'an: Sichuan Agriculture University, 2010 (in Chinese)
- [10] Han X F, Li J L, Zhou Y Q, Ren X H, Liu G C, Cao X H, Du X G, Zeng X Y. Active immunization with GnRH-tandem-dimer peptide in young male rats reduces serum reproductive hormone concentrations, testicular development and spermatogenesis[J/OL]. *Asian Journal of Andrology*, 2015, doi: 10.4103/1008-682X.156856. [2015-09-20]. [http://www.ajandrology.com/text.asp? 0/0/0/156856](http://www.ajandrology.com/text.asp?0/0/0/156856)
- [11] Neringa S, Ronaldas B, Jurate S, Vigilius J, Henrikas Z. Effect of active immunization against GnRH on “boar taint”, testes and accessory sex glands in matured boars[J]. *Veterinarija ir Zootechnika*, 2014, 65(87): 91-96
- [12] Pfaffl M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, 29(9): e45
- [13] Zeng X Y, Turkstra J A, Melen R H, Liu X Y, Chen F Q, Schaaper W M, Oonk H B, Guo D Z, van de Wiel D F. Active immunization against gonadotrophin-releasing hormone in Chinese male pigs: Effects of dose on antibody titer, hormone levels and sexual development [J]. *Animal Reproduction Science*, 2002, 70(3/4): 223-33
- [14] Mackay J, Pearce M C, Thevasagayam S, Doran O. Fatty acid composition and lipogenic enzyme protein expression in subcutaneous adipose tissue of male pigs vaccinated against boar taint, barrows, and entire boars[J]. *Journal of Animal Science*, 2013, 91(1): 395-404
- [15] Lu S, Huffman M, Yao Y, Mansbach C M, Cheng X, Meng S, Black D D. Regulation of MTP expression in developing swine [J]. *Journal of Lipid Research*, 2002, 43(8): 1303-1311
- [16] Choi S H, Ginsberg H N. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin

- resistance[J]. *Trends in Endocrinol and Metabolism*, 2011, 22(9): 353-363
- [17] 蔡兆伟. 阉割影响猪脂肪沉积的分子机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011: 44-48
Cai Z W. Study on molecular mechanisms of the effect of castration on fat deposition in male pigs [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011: 44-48 (in Chinese)
- [18] Uyeda K, Repa J J. Carbohydrate response element binding protein, ChREBP, a transcription factor coupling hepatic glucose utilization and lipid synthesis[J]. *Cell Metabolism*, 2006, 4(2): 107-110
- [19] Iizuka K, Miller B, Uyeda K. Deficiency of carbohydrate-activated transcription factor ChREBP prevents obesity and improves plasma glucose control in leptin-deficient (ob/ob) mice[J]. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 2006, 291(2): 358-364
- [20] Edwards P A, Tabor D, Kast H R, Venkateswaran A. Regulation of gene expression by SREBP and SCAP [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2000, 1529(1/2/3): 103-113
- [21] Shimomura I, Hammer R E, Richardson J A, Ikemoto S, Bashmakov Y, Goldstein J L, Brown M S. Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: Model for congenital generalized lipodystrophy[J]. *Genes & Development*, 1998, 12(20): 3182-3194
- [22] Evans R M, Barish G D, Wang Y X. PPARs and the complex journey to obesity[J]. *Nature Medicine*, 2004, 10(4): 355-361
- [23] Lefterova M I, Haakonsson A K, Lazar M A, Mandrup S. PPAR γ and the global map of adipogenesis and beyond[J]. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2014, 25(6): 293-302
- [24] Huang Z G, Xiong L, Liu Z S, Qiao Y, Liu S R, Ren H X, Xie Z, Liu G Q, Li X B. The developmental changes and effect on IMF content of H-FABP and PPAR γ mRNA expression in sheep muscle[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2006, 33: 507-514
- [25] Zhang H B, Wang M S, Wang Z S, Zhou A M, Zhang X M, Dong X W, Peng Q H. Supplementation dietary zinc levels on growth performance, carcass traits, and intramuscular fat deposition in weaned piglets[J]. *Biological Trace Element Research*, 2014, 161(1): 69-77
- [26] Liu Z H, Yang F Y, Kong L J, Lai C H, Piao X S, Gu Y H, Ou X Q. Effects of dietary energy density on growth, carcass quality and mRNA expression of fatty acid synthase and hormone-sensitive lipase in finishing pigs [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 2007, 20(10): 1587-1593
- [27] 方富贵, 张运海, 刘亚, 苏时萍, 蒲勇, 李运生, 陶勇, 章孝荣. 重组 GnRH 主动免疫对公猪体重及生长激素和 IGF-I 的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(9): 809-813
Fang F G, Zhang Y H, Liu Y, Su S P, Pu Y, Li Y S, Tao Y, Zhang X R. Effects of body weight, growth hormone and IGF-I of active immunization against recombinant GnRH in boars [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2011, 27(9): 809-813 (in Chinese)
- [28] Allan C A, McLachlan R I. Androgens and obesity[J]. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 2010, 17(3): 224
- [29] Mayes J S, Watson G H. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity[J]. *Obesity Reviews*, 2004, 5(4): 197-216

责任编辑: 苏燕